

THESIS

München
MÜNCHEN

1968

BEZIEHUNG ZWISCHEN
UMWELTBEDINGUNGEN,
CYTOGENETIK UND MALIGNITÄT
VON TUMOREN

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

Adelheid *L* Emminger

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. BÜNGELER

BEZIEHUNG ZWISCHEN
UMWELTBEDINGUNGEN,
CYTOGENETIK UND MALIGNITÄT
VON TUMOREN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Adelheid Emminger
aus Berlin

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Prof. Dr. Dr. H. WRBA
Korreferent:	Prof. Dr. W. BÜNGELER
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.1966

G L I E D E R U N G

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
B. CYTOGENETIK VON TUMOREN	6
I. Historischer Überblick	6
II. Die Chromosomen	9
III. Cytologische Untersuchungen an Tumoren	15
1. Material und Methode	15
2. Ergebnisse:	21
a) Das Plasmacytom des Goldhamsters	21
b) Das Walker-Carcinom der Ratte	23
c) Der Mäuseascitestumor	28
d) Der Krebs-2-tumor der Maus	29
e) Das Yoshida-Sarkom der Ratte	30
f) Einige menschliche Tumoren in Ascitesform	32
3. Besprechung der Ergebnisse:	43
a) Numerische und strukturelle Veränderungen des Chromosomensatzes	43
b) Das Stammlinienkonzept	53
c) Das Problem der Malignität aus cytogenetischer Sicht	60
C. ZUSAMMENFASSUNG	64
D. TABELLEN	66
E. LITERATURVERZEICHNIS	69
LEBENS LAUF	83



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154017_0006

A. EINLEITUNG UND PROBLEMGESTELLUNG

"Jede Geschichtsperiode hat ihre charakteristische Krankheit, die sie beherrscht und die mit ihr aufhört. Die Krankheit des 20. Jahrhunderts ist der Krebs" (KÖRBLER, 1964). Die Forschung umkreist ihn von allen Seiten und sucht mit den modernsten morphologischen, biochemischen, physikalischen und statistischen Methoden die Ursache dieses so vielgestaltigen biologischen Phänomens zu ergründen.

Als v. HANSEMANN (1890) erstmals abnorme Mitosen in Tumorgewebe beobachtete und BOVERI (1912) seine Theorie vom Ursprung maligner Zellen entwickelte, nahm sich auch die Cytogenetik des Problems der Entwicklung und Progression maligner Tumoren an.

Die Verbesserung der Methoden führte zu immer neuen Erkenntnissen, geeignete Versuchstiere ergaben eine breite Basis für grundlegende Untersuchungen. 1932 konnten LOEWENTHAL und JAHN als erste einen soliden Mäusetumor in die Ascitesform überführen, und damit lösten sie eine Lawine von Forschungen aus. In Schweden, Japan, Amerika und Deutschland wurden transplantable Ascitestumoren geradezu serienweise hergestellt, man tauschte die Krebsstämme über Kontinente hinweg aus und verglich ihre biologischen und cyto genetischen Eigenschaften.

Heute hält jede grössere Arzneimittelfirma ihre Tumorstämme im Forschungslabor, und in den medizinischen Instituten zahlreicher Universitäten werden Ascitestumoren systematisch und nach allen Richtungen hin untersucht.

Im Rahmen der verschiedenartigsten Forschungen über transplantable Tiertumoren soll die vorliegende Arbeit einen cytologischen Beitrag bieten.

Es ergaben sich zwei besonders interessante Fragen:

Wie wirken sich veränderte Umweltbedingungen, geschaffen durch Transplantation des Tumors in ein artfremdes Wirtstier auf seinen Chromosomengehalt aus?

Spiegelt sich auch die Malignität eines Tumors in seinem Chromosomenmuster?

Die Untersuchung menschlicher Tumorzellen in Ascitesflüssigkeit wurde zwar unter denselben Gesichtspunkten durchgeführt, doch blieb die Andersartigkeit des primären neoplastischen Wachstums im Gegensatz zu den oft transplantierten genetisch stabilen Tiertumoren zu berücksichtigen.

B. CYTOGENETIK VON TUMOREN

I. HISTORISCHER ÜBERBLICK

Die Geschichte der Cytologie, der Lehre von der Zelle, nahm ihren Anfang in der Mitte des 17. Jahrhunderts, als der Engländer HOOKE zum ersten Mal Zellen des Korkes als "empty vessels" und als "cell boxes" beschrieb. Im Laufe der Jahrhunderte erkannte man dann die Zelle als Grundeinheit der Organisation im Bereich des Lebendigen, und 1838 wurde diese Erkenntnis erweitert durch die Entdeckung von SCHLEIDEN und SCHWANN, dass neue Zellen nur durch Teilung entstehen können. Die Lehre VIRCHOWS 1858 von der Kontinuität der Zellfolge vertiefte die Zelltheorie SCHLEIDENS noch und führte ausserdem erstmals zur Verbindung von Cytologie und Genetik.

Nachdem FLEMMING 1898 die Einzelheiten der mitotischen Teilungsfigur beschrieben und den Namen Chromatin für die färbbaren Teile des Kernes verwandt hatte, nachdem WALDEYER 1888 den Namen "Chromosom" eingeführt hatte und um die Jahrhundertwende die MENDELSchen Gesetze wiederentdeckt wurden, waren die einzelnen Fäden der Genetik und Cytologie endgültig zu einem dauerhaften und wunderbar logischen Gewebe verbunden; Der Chromosomentheorie der Vererbung.

Schon 1879 hatte ARNOLD Kernteilungen in Geschwulstzellen beobachtet und gezeichnet -heute erkennt man deutlich multipolare Spindeln in seinen Bildern-, und er hatte nicht gehant, dass weitere Beobachtungen an Mitosen von Tumorzellen zur Frage nach Krebsentstehung und -entwicklung aus genetischer Sicht führen würde.

1890 konnte v. HANSEMANN feststellen, dass die Teilungsfiguren, die er in Krebsgewebe beobachtete, abnorm waren. Schlüsse daraus zog jedoch erst BOVERI 1912. Er sah in seinen Untersuchungen, dass sich abnorme und multipolare Mitosen abwickeln, wenn zwei Spermien statt einer in ein Seeigeli eindringen, und dass sich daraus Veränderungen der Chromosomenzahl ergeben, was wiederum die Grösse der entstehenden Zellen beeinflusst. Polymorphie der Kerne war auch in Tumorgewebe festgestellt worden, und so entstand BOVERIs Theorie vom Ursprung maligner Zellen, die den Krebs als genetisches Problem auffasste:

Fehlerhafte Mitosen, die in jedem Gewebe vorkommen, führen zu Aberrationen in der Chromosomenzahl, und einige der entstehenden genotypisch unausgegliehenen Zellen neigen unter bestimmten Bedingungen zu neoplastischem Wachstum.

BOVERIs Auffassung wurde viel diskutiert, schliesslich vergessen und erst in jüngster Zeit wieder gewürdigt (KOLLER, 1957, 1960). Grosses

Aufsehen erregten Ende der zwanziger Jahre BAUER (1928) in Deutschland und STRONG (1926) in Amerika, die -wiederum auf der Ebene der Genetik- die Krebsentstehung durch Mutationen, durch Genänderungen in Körperzellen erklärten.

Das tiefere Eindringen in diese Fragen wurde jedoch erst möglich, als geeignete Versuchsobjekte und Untersuchungsmethoden zur Verfügung standen. Da der Mensch für Experimente nicht in Frage kommt, muss man auf Tiertumoren zurückgreifen. Diese konnten durch Überimpfung von Tier zu Tier einer Gattung übertragen und nach ihrem biologischen Verhalten in Unterstämme getrennt werden. Auch gelang es bald, sie auf Tieren einer anderen Species zu züchten.

Trotz der noch sehr wenig entwickelten Präparationsmethoden, und trotzdem man noch nicht einmal die genaue Chromosomenzahl der normalen Zelle der verschiedenen Versuchstiere und des Menschen kannte, waren die chromosomalen Veränderungen in Tumorzellen so auffällig, dass WINGE nach Studien an Geschwülsten der Zuckerrübe (1927) und an Teerkarzinomen von Mäusen (1930) eine ganz neue Theorie aufstellte:

Das Gewebe eines Tumors setzt sich zusammen aus einer genetisch heterogenen Population von Abkömmlingen einer oder mehrerer Zellen, die durch lokale Reizung Veränderungen ihres Chromosomenbestandes erlitten haben. Einzelne Chromosomen gehen dabei verloren, andere verdoppeln sich. Daraus kann die für maligne Gewächse kennzeichnende Wachstumsintensität und ein gestörter Metabolismus entstehen. Weiter wirkt noch die Umwelt auf das maligne gewordene Gewebe ein: Sie übt eine Selektion auf die aberranten Zellen aus und bevorzugt die besonders lebenskräftigen Glieder der Population.

Erst viel später, in den Jahren 1952 bis 1957, griff MAKINO diese geniale Konzeption WINGEs auf und nannte die durch Selektion dominant gewordenen Tumorzellen "Stammzellen".

Im Laufe der Jahre hatte man grosse Fortschritte in der Untersuchungstechnik gemacht.

Die sehr unklaren Chromosomenbilder der gequetschten Gewebeschnitte hatten schon immer Schwierigkeiten in der Auszählung und erst recht in der Erkennung der Form der Chromosomen bereitet. Man sprach z.B. von rutenförmigen, j- und v-förmigen Chromosomen und war sich über die Stellung des Kinetochors z.B. der Rattenchromosomen durchaus nicht einig (MAKINO, 1952). Da gelang es KLEIN 1951 solide Mäusetumoren in die Ascitesform zu überführen und sozusagen Krebszellen in Reinkultur zu gewinnen, die natürlich wesentlich leichter zu präparieren waren als die Gewebeschnitte. Dann nützte man den Quellungseffekt hypotonischer Lösungen auf die Zellen aus und bekam so deutlich erkennbare, im Blickfeld gut verteilte Chromosomen (HSU, 1952). Schliesslich wurde es allgemein üblich, mit Colchizin oder seinen Derivaten zu arbeiten, also

mit Mitosegiften, die die Zellteilung durch Störung des Spindelapparates in der Metaphase hemmen. So wird die Zahl der Metaphaseplatten eines Tumors vermehrt. Diese Agenzien bewirken ausserdem eine vermehrte Kontraktion der Chromosomen. Weiter wird durch diese Behandlung ein Spreizen der Chromatiden erreicht, so dass jetzt die Stellung des Zentromers eindeutig identifiziert werden kann.

Im Jahre 1956 gelang es TJIO and LEVAN und einige Monate später auch FORD and HAMERTON, die Chromosomenzahl des Menschen endgültig auf 46 festzulegen. Genaue Analysen der Chromosomensätze der verschiedensten Tierarten folgten.

Man entdeckte dann eine von der Norm abweichende Chromosomenmorphologie bei bestimmten erblichen Krankheiten (BARR and CARR, 1960, LEJEUNE und TURPIN, 1961, SMITH et al., 1960, WARKANY et al., 1963) und hatte jetzt auch die Möglichkeit, menschliche Tumorzellen genauer mit normalen Zellen zu vergleichen. Und wieder wurden die Befunde der Jahrhundertwende bestätigt: Auffallende numerische und morphologische Variabilität im Chromosomensatz von malignen Zellen.

Innerhalb weniger Jahre wurden die wichtigsten cytogenetischen Theorien über die Malignität aufgestellt:

Im Verhalten normaler Zellen, die lange in vitro gezüchtet worden waren, erblickte man ein Modell der Carcinogenese, und zwar im Hinblick auf die hier wie dort auftretenden Mitoseunregelmässigkeiten und die Variabilität der Chromosomenzahl und -form. (LEVAN, 1956, LEVAN and BIESELE, 1958, SANFORD, 1958, HSU, 1961).

Man beobachtete, dass sich mit verändertem biologischen Verhalten eines Tumors auch die Chromosomenverhältnisse ändern, oder dass solche Änderungen auf die verschiedenste Art und Weise induziert werden können. (ISING, 1955, 1958, 1960, HANSEN-MELANDER, 1958, AHLSTRÖM, 1957, SASAKI und SASAKI, 1962, EICKE, MEINERS und WRBA, 1964, WRBA, EICKE und MEINERS, 1964, WRBA, EICKE, MEINERS und EMMINGER, 1964). Aber man fand auch eine auffallende Konstanz des einmal entwickelten und dann stabil gewordenen Karyotyps eines Geschwulststammes (MAKINO, 1957) oder Tumoren mit vollkommen normalen Chromosomen (OHNO, KOVACS und KINOSITA, 1959, KAPLAN, 1959, BAYREUTHER, 1960).

Noch bestehen viele Unklarheiten; jede beantwortete Frage bringt unzählige neue Probleme. Mit den modernsten chemischen und physikalischen Hilfsmitteln, mit radioaktiven Isotopen und mit dem Elektronenmikroskop versucht man, dem Geschehen in der normalen und maligne gewordenen Zelle auf die Spur zu kommen.

II. DIE CHROMOSOMEN

Die Zelltheorie von SCHLEIDEN und SCHWANN definiert die Zelle als strukturelle Einheit der Organisation des Lebendigen, und VIRCHOWS Lehre von der Zellfolge kennzeichnet ihre Herkunft, die Entstehung neuer Zellen durch Teilung, durch Mitose. Dabei wird das genetische Material im Kern, das die Eigenschaften einer Zelle oder eines Zellgefüges bestimmt, gleichmässig auf die Tochterzellen verteilt.

Im INTERPHASESTADIUM einer Zelle, auch Ruhestadium genannt, sind nur die Nukleolen als dunkle, rundliche Körperchen im Kern zu erkennen. Ausserdem beobachtet man bei manchen Zellen die Prochromosomen oder Chromozentren, bestimmte Abschnitte der Chromosomen, die aus Heterochromatin bestehen. Dieses bleibt -im Gegensatz zum Euchromatin- wegen seines hohen Gehaltes an Nucleinsäure und wegen der starken Spiralisierung der DNS-Ketten auch im Interphasekern sichtbar (HEITZ, 1931).

Die Chromosomen als solche treten erst in der PROPHASE, dem ersten Stadium der Zellteilung, als lange gewundene Stränge hervor. Der Kern hat sich durch Wasseraufnahme vergrössert, eine zunehmende Entquellung und eine Verkürzung und Verdickung der Chromosomen macht sie immer mehr deutlich. Ein feiner Spalt teilt jedes Chromosom der Länge nach in zwei Hälften, in die Chromatiden. Neueste Untersuchungen (GINENEZ-MARTIN und LOPEZ-SÁEZ, 1964) machen eine noch weitergehende Unterteilung wahrscheinlich, eine polyfibrilläre Struktur der Chromosomen: Mindestens 4 Chromonemata winden sich schraubig umeinander (relational coiling), und bilden die funktionelle Einheit des Chromosoms, das Chromatid.

Während der Prophase war das Zentrosom, das zwei gut färbbare Körperchen, die Zentriolen, enthält, aussen an der Kernmembran gelegen und hatte sich in zwei Hälften mit je einem Zentriol geteilt. Diese wandern jetzt entlang der Kernmembran in entgegengesetzter Richtung auseinander und bleiben gegenüber der von den Chromosomen gebildeten Äquatorialplatte an den Spindelpolen liegen.

Dann löst sich die Kernmembran auf, und mit dem Erscheinen einer fädigen, aus dem Cytoplasma isolierbaren Struktur, der Spindel, beginnt die METAPHASE.

Von Pol zu Pol spannen sich kontinuierliche Fasern aus. Von den Polen zu den deutlich erkennbaren homologen Chromosomenpaaren strahlen Chromosomenspindelfasern aus und heften sich am Zentromer oder Kinetochor eines jeden Chromosoms an. Diese Spindelfaseransatzstelle ruft eine Einschnürung am Chromosom hervor. Eine solche zentrische oder primäre Konstriktion kann terminal, subterminal oder median liegen und bestimmt so die Form jedes einzelnen Chromosoms, die von Zelle zu Zelle einer Spezies konstant ist.

Bei manchen Chromosomen gibt es auch sekundäre Einschnürungen als charakteristische Merkmale. Wenn sie am distalen Ende eines Schenkels vorkommen, schnüren sie ein Stück, den Trabanten oder Satelliten ab (HEITZ, 1931, sine acido thymonucleinico = SAT-Chromosom). Diese sekundären Einschnürungen sind oft an der Bildung der Nukleolen beteiligt. Im weiteren Verlauf der Metaphase ordnen sich die gut identifizierbaren Chromosomen in der Äquatorialebene zwischen den beiden Spindelfaserpolen an.

Mit der Verdoppelung der Zentromeren beginnt die ANAPHASE. Die beiden Chromatiden werden an der Spindelfaseransatzstelle getrennt und beginnen, mit dem Cytoplasmastrom zu den entgegengesetzten Polen zu wandern. In einigen Organismen wird diese Bewegung noch durch eine Streckung der Spindel unterstützt. Dabei lassen die Tochterchromosomen einen V-, J- oder stabförmigen Umriss erkennen.

An den Polen bleiben sie dann liegen und formen sich in der TELOPHASE innerhalb einer neu gebildeten Kernmembran wieder zu einem Ruhekern um. Dabei vollzieht sich auch die Durchschnürung des Cytoplasmas.

Eine Mitose ist bei Heuschrecken nach etwa 8 Stunden beendet (CARLSON, 1956), wobei die einzelnen Stadien verschieden lang dauern. Tierzellen in Kultur brauchen etwa 1 Stunde für eine Teilung (SWANSON, 1960). Für das Yoshidasarkom geben MAKINO und NAHAKARA 1953 70-190 min. Mitosedauer an, und zwar in direkter Abhängigkeit von der Temperatur der Umgebung.

Im Interphasekern vollzieht sich die exakte Reproduktion der Chromosomen und bei der Mitose die Verteilung der Schwester-Chromatiden auf die Tochterzellen. Dies gewährleistet die Uniformität der neu entstandenen Zellen im Hinblick auf ihr genetisches Material, auf die Faktoren der Vererbung, die MENDEL 1865 in seinen Vererbungsgesetzen postulierte. Die Kombination dieser Gesetze mit den Beobachtungen am Verhalten der Chromosomen ergab die BOVERI-SUTTONsche Chromosomentheorie der Vererbung: Die Gene sind linear auf den Chromosomen angeordnet.

Chiasmabildungen, Brüche und Translokationen bei Chromosomen zeigten eine auffallende Parallelität zu beobachteten Austauscherscheinungen gewisser Erbeigenschaften und bewiesen so die Lokalisation der Gene auf den Chromosomen. Die genetische Individualität einzelner Chromosomen und die Lage bestimmter Gene auf bestimmten Chromosomen wurde durch die Untersuchungen verschiedener gekoppelter Eigenschaften und Krankheiten bei Mensch und Tier entdeckt. Auf Grund einzelner Austausch- und Koppelungsvorgänge konnte man von verschiedenen Versuchstieren mit Riesenchromosomen (Taufliegen, Schmetterlingen, Raupen) Genkarten aufstellen, in denen die Reihenfolge und die Abstände der Ge-

ne auf den Chromosomen festgelegt sind. Weiter fand man plötzliche Veränderungen der Erbfaktoren, wobei das veränderte Gen in gleicher Weise weitergegeben wurde wie das ursprüngliche. Die Zahl dieser sogenannten Mutationen kann man durch Röntgenstrahlen, Korpuskularstrahlen und chemische mutagene Substanzen erhöhen.

Aus solchen biologischen Beobachtungen ergaben sich Hinweise auf den chemischen Aufbau des genetischen Materials: Mit der Feulgenreaktion, die eine spezifische Färbung für Desoxyribonucleinsäure ist, und mit Ultraviolett-Absorptionsmessungen hat man DNS im Kern und zwar in den Chromosomen festgestellt. In den Keimzellen, die nur den haploiden Chromosomensatz enthalten, fand sich dabei genau die Hälfte der DNS diploider Körperzellen. Der Beweis dafür, dass diese DNS identisch ist mit den Erbfaktoren, ergab sich aus der Bestrahlung der Chromosomen mit UV-Licht: die Mutabilität der Gene liess sich erheblich steigern. Das Wirkungsspektrum dieser Bestrahlung stimmt mit dem Absorptionsspektrum der DNS überein, d.h. Licht der Wellenlänge um 260 $m\mu$, das gerade von der DNS stark absorbiert wird, hat die stärkste mutagene Wirkung (KARLSON, 1961).

Für die Eigenschaft der identischen Reproduktion des genetischen Materials scheint das WATSON-CRICK-Modell der DNS einen Schlüssel zu liefern:

Ein Zucker und eine Base sind durch eine C-N-Bindung verknüpft. Viele solche Nukleoside sind durch Phosphorsäure miteinander verbunden. So entsteht ein langer Polynukleotidstrang. Im DNS-Molekül können je zwei bestimmte Basen miteinander in Beziehung treten. Durch diese Basenpaarung werden zwei Polynukleotid-Stränge zusammengehalten, gleichzeitig bestimmt jede Base den entsprechenden Paarling, so dass ein Strang die vollständige Sequenz der Basen im anderen Strang festlegt. Die beiden Moleküle in Form eines Doppelstrangs sind zu einer Schraube miteinander verdreht, und jeder Einzelstrang dieser Helix dient als Matrize für ein neues Molekül DNS mit identischer Basenfolge, den Baustein des genetischen Materials.

DIE CHROMOSOMENSÄTZE VON MENSCH, RATTE, GOLDHAMSTER und MAUS

Als Ausdruck der von der Norm abweichenden Eigenschaften der Krebszellen zeigen sich meistens Unregelmässigkeiten im Chromosomengehalt von Tumorzellen. Wie gross und wie bedeutsam diese Abweichung ist, kann man jedoch nur nach genauer Untersuchung der Chromosomen einer Geschwulstzelle feststellen, und zu diesem Zweck benötigt man die Kennt-

nis des übersichtlich geordneten normalen Chromosomensatzes der Ursprungstierart eines Tumors.

Man wendet dabei das "pairing-off"-Verfahren an: die Chromosomen werden zu homologen Paaren geordnet und diese wieder in Gruppen eingeteilt.

Fast 80 Jahre, nachdem ARNOLD zum erstenmal menschliche Chromosomen gezeichnet hatte, wurde ein Schlussstrich unter die Klassifizierung der menschlichen Chromosomen gezogen. Erst 1956 war die endgültig richtige Chromosomenzahl des Menschen ($2n = 46$) bestimmt worden. 1960 schlug die HUMAN CHROMOSOME STUDY GROUP die Anordnung der Chromosomen nach absteigender Grösse und Stellung des Zentromers vor, und schliesslich kombinierte HAUSCHKA 1962 dieses Standardsystem der Nomenklatur mit dem Gruppensystem von PATAU' (1960, 1961). (Abbildung 1)



ABBILDUNG 1

Mensch: weibliches und männliches Karyogramm

Da die Untersuchungen über die Morphologie der Rattenchromosomen einige Unterschiede ergaben (MAKINO und HSU, 1954, TJIO and LEVAN, 1956), machte sich FITZGERALD 1961 nocheinmal mit wesentlich verbesserten Präparationsmethoden daran, ein Ordnungssystem der Chromosomen dieses wichtigen Versuchstieres zu finden und die Geschlechtschromosomen mit Sicherheit zu bestimmen. (Abbildung 2)

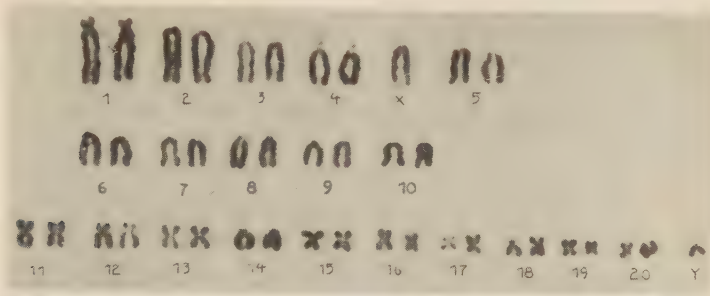


ABBILDUNG 2

Ratte: männliches Karyogramm

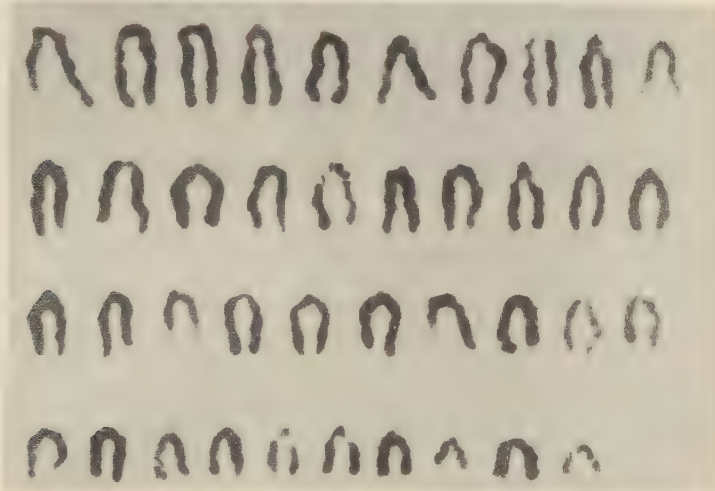


ABBILDUNG 3

Maus: weibliches Karyogramm

Die Maus (Abbildung 3) wurde schon sehr früh (GOLDSCHMIDT und FISCHER, 1927) wegen ihrer einheitlichen telozentrischen 40 Chromosomen als sehr geeignetes Versuchstier für cytogenetische Untersuchungen erkannt. Die leichte Überschaubarkeit des Komplementes macht eine Entdeckung auch der geringsten Unregelmässigkeiten der Chromosomenzahl und -gestalt sehr einfach (BOOTHROYD und WALKER, 1952, TJIO and LEVAN, 1954, STICH und HSU, 1960).

Über das Chromosomenkomplement (Abbildung 4) des syrischen Goldhamsters ($2n = 44$) machen nur ISHIHARA und Mitarbeiter genaue Angaben (1962).

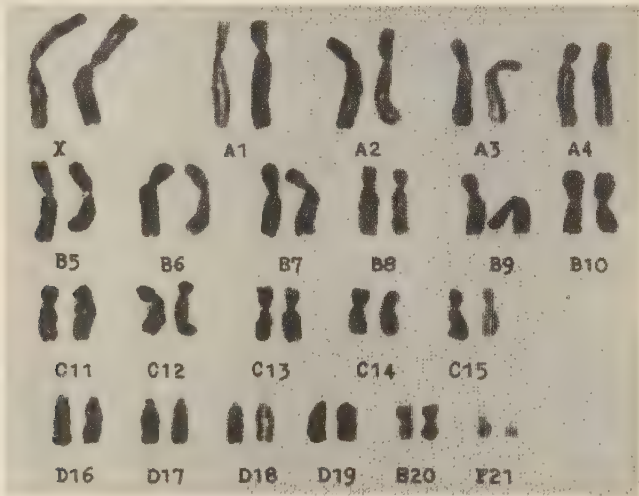


ABBILDUNG 4

Syrischer Goldhamster; weibliches Karyogramm

III. CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN TUMOREN

1. MATERIAL UND METHODE

Die Beziehung zwischen Umweltbedingungen, Cytogenetik und Malignität von Tumoren wurde überprüft durch den Vergleich cytologischer und biologischer Phänomene einiger Tiertumoren in Ascitesform und an Suspensionen von Tumorzellen im Ascites von 8 Patientinnen mit Ovarial-Carcinom, einer mit Ovarial- und Collum-Carcinom und einer mit Collum-Carcinom.

Das Plasmocytom des Goldhamsters

Besonders eingehend wurde ein β -Plasmocytom des syrischen Goldhamsters untersucht, das GARCIA, BARONI und RAPPAPORT 1961 als erste beschrieben hatten. Es entstand spontan in einem 83 Monate alten männlichen Tier. 1963 wurde es in die Ascitesform übergeführt und konnte mit einer Angehrate von 96 % auf männliche und weibliche Hamster transplantiert werden. Seither wächst es in regelmässigen Passagen auf Goldhamstern, wird am 4.-10. Tag des Tumorwachstums mit 0,5 ml Ascites übertragen und tötet die Tiere ungefähr nach 14 Tagen. Meist entwickelt sich neben dem hämorrhagischen Ascites auch noch ein solider Tumor in der Bauchhöhle.

Bisher ist es nicht gelungen, den Tumor auf Ratten oder Mäuse zu übertragen. In Kultur zeigen die Zellen kein Wachstum (EMMINGER, EICKE, MOHR und WRBA, 1965).

Bei einem transplantierbaren Geschwulststamm ist erst nach der 10. Passage mit stabilen biologischen und cytologischen Kriterien zu rechnen (WRBA und RABES, 1963). Es konnten also bei den Untersuchungen der Chromosomen des Tumors während der 50.-60. Passage einheitliche Ergebnisse erwartet werden.

6 männliche und 4 weibliche Tiere mit einem Durchschnittsgewicht von 80 g erhielten 3-4 Stunden vor der Ascitesgewinnung 18-19 mg Colcemid (CIBA) pro kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

Das Walker-Carcinom der Ratte

Dieser Tumor entstand 1928 als spontanes Mammacarcinom einer Ratte. Er wurde von WARREN und GATES 1936 in die Ascitesform überführt und

wird seither in zahlreichen Unterlinien unter verschiedenen Bedingungen gehalten und überimpft. Die cytologische Analyse wurde am Walker-Carcinom der Ratte vom Stamme W ausgeführt. Seit 1958 wurde diese Linie in München in der Ascitesform auf Ratten transplantiert und lässt sich auch auf Hamster und Mäuse ohne Vorbehandlung der Tiere übertragen. Sie entspricht dem inzwischen ausgestorbenen Stamm MR-RM (WRBA und RIPOLL-GOMEZ, 1960).

Zur Zeit der Untersuchungen war der Tumor (W) auf Sprague-Dawley Ratten in der 120. bis 220. Passage (WRBA, EICKE und MEINERS, 1964). Etwa am 3. Tag des Tumorwachstums wird er durch intraperitoneale Injektion von je 0,5 ml Ascites meist auf weibliche Ratten mit einem Körpergewicht von 200-270 g übertragen. Nach dem 4. Tag können Rückbildung des Ascites und Degenerationserscheinungen der Carcinom-Zellen beobachtet werden. Die Tiere gehen etwa am 14. Tage zugrunde. Am 3.-5. Tag nach der Überimpfung, 3-15 Stunden vor der Entnahme des zellreichen, meist hämorrhagischen Ascites für die cytologische Untersuchung wurden die Ratten mit 6-25 ml Colcemid/kg Körpergewicht intraperitoneal beimpft.

Die entsprechende Linie des Tumors auf syrischen Goldhamster (GW) war zur Zeit der zwei-maligen Untersuchungen jeweils in der 30.-40. Passage. Die Geschwulst zeigte nämlich nach einer bestimmten Zahl von Passagen kein Wachstum mehr. Es musste durch Überimpfung von Rattenascites auf Hamster eine neue Linie begonnen werden. Männliche und weibliche Tiere mit einem Gewicht von 56 bis 117 g wurden zur Anreicherung der Metaphaseplatten mit denselben Colcemiddosen wie die Ratten beimpft. Meistens konnten 4-6 ml zellreicher, chylöser, seltener schwach hämorrhagischer Ascites gewonnen werden.

Auf Mäusen (NMRI) war der Tumor in der 40.-50. und 106.-109. Passage. Die Tiere wogen 18 bis 40 g, der Ascites war sehr dückflüssig und milchig, manchmal leicht hämorrhagisch. Die Colcemiddosis und die Einwirkzeit des Mitosegiftes entsprachen den Werten bei Ratten und Goldhamster.

Weitere cytologische Untersuchungen wurden an 5 transplantablen Tiertumoren ausgeführt: am Ehrlich-Ascitestumor der Maus (MAT), am Krebs-2-Ascitestumor der Maus (K-2), an einem Stamm des Yoshida-Sarkoms der Ratte (RS) und an zwei Unterlinien dieser Geschwulst auf Mäusen (MS, MY).

Der Ehrlich'sche Mäuseascitestumor

1905 berichteten EHRLICH und APOLANT über 60 biologisch unterschiedliche Stämme eines spontanen Mammacarcinoms einer Maus, die sich von

Tier zu Tier dieser Species weiter übertragen liessen. 1906 versuchte EHRLICH, den Tumor auf Ratten zu transplantieren. Er erhielt jedoch keine stabile Linie, sondern konnte die Geschwulst nur in Zick-zack-passagen zwischen Ratten und Mäusen überimpfen. Während des ersten Weltkrieges gingen die Protokolle verloren, und seither herrscht grosse Unklarheit über die Herkunft der verschiedenen sogenannten Ehrlich-Tumoren, die in vielen Laboratorien untersucht werden.

1930 gelang es PUTNOKY, den Mäusetumor auch auf artfremde Wirte zu überimpfen, und 1932 führten LOEWENTHAL und JAHN einen Stamm des Ehrlich-Tumors in die Ascitesform über. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um die sehr virulente Frankfurter Linie (RUTISHAUSER, 1963). Die beiden Forscher entwickelten schon damals die Methode der serienmässigen intraperitonealen Passage des Ascites und führten den Ausdruck Ascitestumor ein.

1951 entdeckten HAUSCHKA und LEVAN die besondere Eignung des Tumors auch für cytologische Untersuchungen und seither sind die sogenannten Ehrlich-Ascites-Carcinome (EAC = MAT) von mehreren Forschungsgruppen auch chromosomal analysiert worden. Man stellte dabei unterschiedliche Ploidiestufen der einzelnen Tumorklinien fest. LEVAN (1956) und HAUSCHKA und LEVAN (1958) berichteten über hyper-tetraploide Modalzahlen (82-85). KLEIN und KLEIN 1956, SACHS und GALLILY, 1954, AHLSTRÖM, 1957 und ISING, 1955, 1958, untersuchten ausserdem tetraploide und hypotetraploide Unterlinien.

Es existiert eine hyperdiploide Linie, der sogenannte alte Stamm des Instituts für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg. Die Angaben der einzelnen Untersucher über seine Modalzahlen reichen von 43 bis 49 Chromosomen (BAYREUTHER, 1952, TJIO and LEVAN, 1954, RUTISHAUSER, 1963).

Die verschiedenen Stämme des MAT unterscheiden sich nicht nur in ihren Modalzahlen, sondern auch in ihren biologischen Eigenschaften: LEVAN und HAUSCHKA berichten 1952, dass der fast tetraploide Mäuseascitestumor nicht nur eine andere Chromosomenzahl und -morphologie habe als der Heidelberger MAT, sondern sich auch noch durch sein blutiges Exsudat und eine grössere Virulenz unterscheide.

Da eine Linie des hyperdiploiden Heidelberger Mäuseascitestumors in München seit 5 Jahren in regelmässigen Abständen auf NMRI-Mäuse transplantiert wurde, war es interessant zu erfahren, ob sich innerhalb dieser Zeit Veränderungen chromosomaler Art ergeben hätten.

Es wurden tumortragende Mäuse beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 18 bis 40 g verwendet. Am 7. bis 11. Tag des Tumorzustands wurden 0,5 ml Ascites weitertransplantiert. Für die Mitosehemmung erhielten die Tiere am 4. bis 6. Tag nach der Transplantation der

Geschwulst Colcemiddosen von 15 bis 18 ml/kg Körpergewicht. 3-4 Stunden später wurde der meist chylöse, selten leicht hämorrhagische Ascites gewonnen und weiterverarbeitet.

Der Krebs-2-Ascitestumor der Maus

HAUSCHKA und LEVAN beschreiben 1958 ausführlich einen weiteren Mäusetumor, den Krebs-2. Sie weisen auf seine grosse Ähnlichkeit mit dem MAT hin, die sich in der übereinstimmenden Form der Wachstumskurven, der gleichen Ascitesbeschaffenheit, ähnlichen histologischen und immunologischen Eigenschaften, vergleichbaren Modalzahlen und ähnlichen Markierungschromosomen ausdrückt. Dieser Tumor entstand entweder in der Haut oder der Brustdrüse einer hybriden männlichen Maus (WAGNER, 1933). 1950 führte ihn KLEIN in die Ascitesform über und bestätigte mit seiner Methode der wechselweisen subcutanen und intraperitonealen Implantation der Tumorzellen die Theorie von der Selektion besonders lebensfähiger Tumorzellen. 1954 führten SACHS und GALLILY die erste cytologische Analyse aus, weitere Untersuchungen (LEVAN, 1956, LEVAN and HAUSCHKA, 1958) weisen auf die Modalzahlen des Tumors im tetraploiden und hypotetraploiden Bereich hin.

Vorliegende Untersuchung wurde an einem Stamm des Krebs-2-Tumors in der 39. Passage durchgeführt. Alle experimentellen Daten gleichen denen des MAT.

Das Yoshida-Sarkom der Ratte

1943 entstand das Yoshidasarkom als Rundzellensarkom im Skrotum einer Albinoratte, die 3 Monate mit o-Amidoazotoluen gefüttert und anschliessend 4 Monate mit Kaliumarsenitlösung cutan behandelt worden war. In der Bauchhöhle fand sich dickflüssiger, weisslicher Ascites. Die solide und die flüssige Form des Tumors liessen sich ineinander überführen (LETTRE, 1953). Bei der Bearbeitung dieses Materials sah YOSHIDA 1952 die Möglichkeit, Tumorzellen von anderen zellulären Elementen zu unterscheiden. Weiter stellte er fest, dass die implantierten Tumorzellen rapide die normalen oder Entzündungszellen überwachsen und als fast reine Kultur erscheinen.

MAKINO führte 1952 die erste cytologische Untersuchung der Geschwulst durch und fand eine Häufung der Zellen mit 40 Chromosomen. Weitere Arbeiten folgen (YOSHIDA, 1955, 1959, ISING, 1958), die über Modalzahlen von 36-44 berichteten (MAKINO and SASAKI, 1958, SASAKI and HISAKA, 1958).

Für die vorliegende Arbeit stand ein Stamm des soliden Yoshida-Sarkoms aus Freiburg im Breisgau zur Verfügung. Es war 1959 in die Ascitesform überführt worden. Erst nach Zick-zack-passagen zwischen Ratten und Mäusen gelang es, stabile Linien zu erhalten (WRBA, 1960, 1960a, WRBA und RABES, 1963, WRBA und RIPOLL-GOMÉZ, 1950).

Im Laufe der serienmässigen Übertragung ergaben sich zwei Unterlinien des Tumors, RS und RY, die sich hauptsächlich durch die Dauer der Zick-zack-passagen unterscheiden.

Man überträgt 0,5 ml des hämorrhagischen Ascites von der Ratte auf eine Maus. Nach einigen Tagen entwickelt sich dann ein chylöses Exsudat, das weiter auf Mäuse transplantiert werden kann.

Für die Überimpfung des Tumors wurden meistens weibliche Sprague-Dawley Ratten mit einem Gewicht von 170-240 g verwendet. Etwa am 7. Tag der Tumorentwicklung wurde 0,5 ml Ascites weiterverimpft, ungefähr 3 Wochen danach wurden die Tiere mit Colcemiddosen von 9-11 ml/kg Körpergewicht behandelt. Erst nach 16 bis 19 Stunden Einwirkzeit waren genügend Mitosen für die cytologische Analyse vorhanden. Der Tumor befand sich zur Zeit der Untersuchung in der 142. Passage. Es wurde nur der Stamm RS untersucht.

Der Stamm MS (= Yoshida-Sarkom RS auf Mäusen) wurde in der ersten, MY (= Yoshida-Sarkom RY auf Mäusen) in der zweiten Mäuse-Passage analysiert. Männliche Mäuse (18-40 g) erhielten am 6.-9. Tag der Tumorentwicklung 20-40 ml/kg Colcemid intraperitoneal injiziert, der Ascites wurde nach 3-4 Stunden gewonnen.

Menschliche Tumoren in Ascitesform

Zur Untersuchung (MOHR u. andere, 1966) kamen die Ascitespunktate von 6 Patientinnen mit Ovarial-Carcinom (AT 5, 23, 54, 96, 39/59, 20/44). Bei einer dieser Patientinnen konnte nach 17 Tagen ein weiteres Punktat untersucht werden (AT 39/59). Ausserdem gelang es, die Tumorzellen einer anderen Frau einige Passagen lang in vitro zum Wachsen zu bringen und sie dann noch einmal cytologisch zu untersuchen (AT 20/44).

Von einer weiteren Patientin mit Ovarial-Carcinom standen Tumorzellen in einem Pleurapunktat zur Verfügung (AT 61). Das Pleuraexsudat einer anderen Frau mit dem gleichen Tumor konnte nicht nativ, dafür jedoch nach der 4., 6. und 10. Passage der Zellen in Gewebekultur untersucht werden (AT 81/86/108). Ausser diesen 8 Ovarial-Carcinomen wurden noch die malignen Zellen im Pleurapunktat einer Frau mit primärem Ovarial- und primärem Collum-Carcinom analysiert, die Metastasen und damit den Pleuraerguss verursacht hatten (AT 90).

Weiterhin wurde die 3-malige Untersuchung des Ascites einer Patientin mit Collum-Carcinom ermöglicht (AT 19/24/40) (EICKE, EMMINGER, STRAUSS, MOHR und WRBA, 1965).

Eine Zusammenfassung der klinischen Daten und cytogenetischen Untersuchungsergebnisse gibt Tabelle 2.

Methode

Tumortragenden Ratten, Mäusen und Hamstern wurden 2 bis 20 ml Colcemid (Ciba) pro kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Die Einwirkzeit des Mitosegiftes betrug je nach Tierart und Tumor 3 bis 19 Stunden.

Der abpunktierte Ascites wurde mit Ringerlösung verdünnt und bei 800 Umdrehungen pro Minute 5-10 Minuten zentrifugiert.

Die Tumorzellen im menschlichen Ascites werden von der Flüssigkeit ebenfalls durch Zentrifugieren abgetrennt und in 10 ml Kulturmedium, bestehend aus 15 % Hühnerembryonalextrakt, 40 % Kälberserum und 45 % Hanks'scher Salzlösung, aufgenommen. Die Zellsuspension wird mit 4-60 ml Colcemid pro 1000 ml Medium versetzt und 3-4 Stunden bei 37 Grad gehalten. Für Mitoserate und Darstellung der Chromosomen scheint es gleichgültig zu sein, ob die Zellen während der Einwirkzeit des Mitosegiftes ruhig gelagert oder durch Rotieren im schnellen Rotor in Suspension gehalten werden.

In hypotonischer Salzlösung (Pannet-Compton/Aqua dest. = 1 : 4) lässt man die vom Ascites oder dem Kulturmedium abzentrifugierten Tumorzellen 10 bis 20 Minuten bei 37°C quellen. Dann fixiert man in eisgekühlter Eisessig/Alkoholmischung 1/4 bis 1 Stunde bei etwa 4°C. Die Zellen werden dann auf eisgekühlte Objektträger getropft und kurz luftgetrocknet. In 2 %iger essigsaurer Orzeinlösung (Merck oder Gurr) färbt man die Zellkerne bzw. die Chromosomen in 1/2 bis 1 Stunde dunkelviolet. Die Einbettung des Untersuchungsmaterials geschieht in Eukitt. Die Präparate können bei niedriger Temperatur und im Dunkeln begrenzte Zeit aufbewahrt werden.

Gut gebreite Mitosen mit deutlich identifizierbaren Chromosomen wurden mit dem Photomikroskop (Leitz-Orthomat) photographiert. Von jedem Versuchstier wurden so 70 bis 100 Mikrophotogramme hergestellt, durchschnittlich 75 davon konnten gezählt und analysiert werden. Die Photos zeigen die Chromosomen in etwa 3000-facher Vergrößerung. Metaphaseplatten mit mehr als 100 Chromosomen wurden unter der Rubrik Polyploide (P = mehr als 100 Chromosomen) zusammengefasst. In einem Koordinatensystem werden die Anzahl der Zellen (Ordinate) und die Anzahl der Chromosomen (Abszisse) eingetragen und ergeben ein Histogramm. Die Zellen mit der häufigsten Chromosomenzahl nennt man s-Zellen oder

Stammzellen (MAKINO, 1952). Ihre Chromosomenzahl ist die Modalzahl eines Tumors (SACHS und GALLILY, 1954). Manche Tumoren zeigen 2 Maxima im Histogramm, sie haben also 2 Stammlinien und sind "bimodal". Als Minusvarianten bezeichnet man Zellen, die weniger, als Plusvarianten Zellen, die mehr Chromosomen haben als die Stammzellen.

Bei der Analyse der Metaphaseplatte ordnet man die Chromosomen der Grösse nach und erhält dann ein sogenanntes Idiogramm..

Für die Fragestellung des Themas erschien jedoch eine Karyogrammanalyse der Tumorzellen besser. Dabei vergleicht man die normalen Chromosomen der jeweiligen Art mit den Chromosomen einer Krebszelle derselben Spezies.

Aus den Arbeiten von PATAU 1961, SASAKI, 1961, SYBENGA, 1959 und RUTISHAUSER, 1963 geht hervor, dass Chromosomenmessungen wegen der beträchtlichen Fehlerquellenmöglichkeiten nicht zu empfehlen sind. Schon die Behandlung mit Colcemid und mit hypotonischer Lösung, weiter das Quetschen bzw. das Lufttrocknen der Präparate ergeben Unterschiede in der Länge und Dicke der Chromosomen. Man stellte nicht nur eine verschiedenartige Spiralisierung der einzelnen Chromosomen einer Zelle, sondern auch homologer Chromosomen und sogar der beiden Arme eines Chromosoms fest. So ergaben sich die abweichenden Werte in den Untersuchungen der verschiedenen Autoren bei der Berechnung des Armindex (= Verhältnis der beiden Arme eines Chromosoms) und der relativen Chromosomenlänge (= Verhältnis der Länge eines Chromosoms zur Gesamtlänge aller Chromosomen eines Komplementes) (BOYES, 1961). Von Chromosomenmessungen wurde in dieser Arbeit abgesehen.

2. ERGEBNISSE

a) Das Goldhamster-Plasmocytom (= GP)

Von 10 untersuchten Goldhamstern mit einem Plasmocytom in Ascitesform wurden insgesamt 952 vollständige Metaphaseplatten von Tumorzellen ausgewertet. Die Chromosomenzahlen pro Zelle halten sich in verhältnismässig engen Grenzen, nämlich zwischen 71 und 94 Chromosomen (Abbildung 5). Ein sehr deutliches Maximum mit 30 % bilden die Tumorzellen mit 88 Chromosomen, die sich als die Stammzellen des Tumors erweisen. Daneben findet sich eine zweite Häufung mit 23 % im oktaploiden Bereich um 160. 19 der ausgewerteten Zellen zeigen 71-87 Chromosomen, 28 sind Plusvarianten.

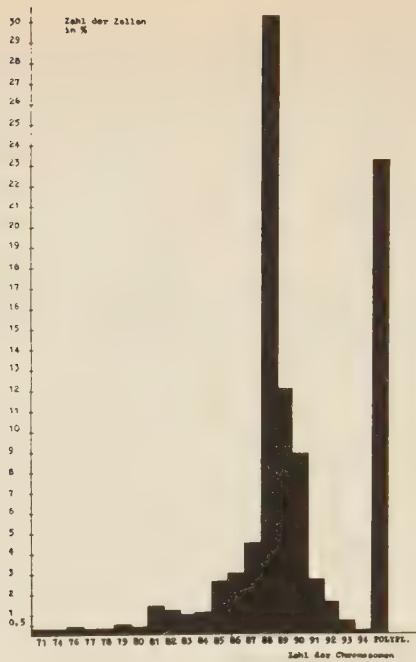


ABBILDUNG 5

Histogramm von GP (s = 88)

Die auffällige Modalzahl des Plasmozytoms mit 88 Chromosomen entsprechend der 4-fachen Haploidiestufe des Syrischen Goldhamsters führte zu der Frage, ob sich der Chromosomensatz des Hamsters im Laufe der Tumorentstehung einfach verdoppelt habe, oder ob hier eine sogenannte Pseudotetraploidie vorliege. Bei der Karyogrammanalyse von 90 Metaphaseplatten fiel auf, dass nur wenige Chromosomen zu Paaren vereinigt werden können.

Zwei grosse mediozentrische Chromosomen wurden als ?X bezeichnet. Sie entsprechen nämlich in ihrem Aussehen den X-Chromosomen des Goldhamsters, es ist jedoch fraglich, ob sie mit diesen identisch sind. 16 mittelgrosse akrozentrische Chromosomen wurden in die Gruppe D eingeordnet, Gruppe E 20 wies 3 kleine metazentrische und F 21-4 wieder akrozentrische, aber sehr kleine Chromosomen auf.

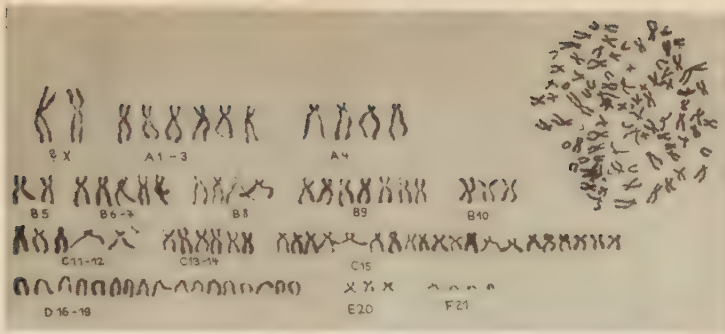


ABBILDUNG 6

Karyogramm einer Stammzelle von GP

Diese numerisch und morphologisch auffallend gleichbleibenden Chromosomengruppen wurden als "Chromosomenmuster" bezeichnet. Bei 49 % der Metaphaseplatten konnte dieses Chromosomenmuster beobachtet werden. Bei 37 % hatte sich nur in einer der aufgezählten Gruppen die Zahl der Chromosomen um plus/minus 1 verringert, die restlichen 14 % der Zellen wiesen grössere Abweichungen in mehreren dieser Gruppen auf.

Die Ergebnisse der Karyotypenanalyse sind in Tabelle 1 zusammengefasst. 56 % der Stammzellen des Plasmozytoms ($s = 88$) zeigten eine Konstanz des Chromosomenmusters, bei den Zellen mit 89 und 90 Chromosomen war der Prozentsatz geringer. Dagegen stieg die Zahl der geringeren oder grösseren Abweichungen bei diesen Zellen an.

Die cytologische Analyse des Plasmozytoms ergab also eine klare Stammlinie des Tumors. Die Stammzellen waren pseudotetraploid und wiesen in bestimmten Gruppen eine vermehrte, aber konstante Chromosomenzahl auf. Dieses Chromosomenmuster war etwas verändert in Metaphaseplatten, deren Chromosomensatz von der Modalzahl abwich.

b) Das Walker-Carcinom der Ratte ($W_1 - W_2$)

Das Walker-Carcinom auf Ratte, Goldhamster und Maus war bereits 1963 cytologisch untersucht worden (WRBA, EICKE und MEINERS, 1964). Die Befunde dieser erstmaligen Untersuchung werden zusammengefasst bzw. in einigen Punkten erweitert den Ergebnissen einer zweiten Analyse gegenübergestellt ($W_1 - W_2$).

Von den ausgewerteten 707 Mitosen des Rattenascites (W 1) hatten 17 % 63 Chromosomen. Die Zahl der benachbarten Zelltypen mit 61-64 Chromosomen ist relativ hoch, so dass 55 % der Zellen im triploiden Bereich der Ratte liegen ($n = 21$). 6 % der untersuchten Zellen zeigen über 100 Chromosomen. Der hohe Prozentsatz der Minusvarianten (30 %) im Gegensatz zu dem geringeren der Plusvarianten (9 %) ist wahrscheinlich auf Präparationsfehler zurückzuführen.

Als der Tumor etwa 90 Passagen später (W 2) wieder untersucht wurde, hatten 33 % der 137 ausgezählten Metaphaseplatten 64 Chromosomen. Im Histogramm ergab sich eine klare Stammlinie. Die Zellen mit mehr als 100 Chromosomen hatten sich nicht vermehrt, die Plus- und Minusvarianten hielten sich etwa die Waage.



ABBILDUNG 7

Karyogramm einer Stammzelle von W 1 ($s = 63$)

Die Chromosomen je einer Metaphaseplatte von W 1 (Abbildung 7) und W 2 wurden untereinander und mit denen einer normalen Rattenzelle verglichen. Es ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung der Chromosomen beider Tumorzellen, trotz der Passagendifferenz von etwa 90. Die Elemente nur weniger Gruppen des Rattengenoms konnten identifiziert werden (1, 4, 12, 14, 18). Einzelne Gruppen zeigten mehr Chromosomen als normal, andere wieder weniger. Bemerkenswert waren 2 oder 3 regelmässig vorkommende Chromosomen, die in Grösse und Form voll-

ständig dem y-Chromosom der Ratte entsprechen. Da der Tumor jedoch auf einer weiblichen Ratte entstanden ist, ist nicht anzunehmen, dass sie mit dem männlichen Geschlechtschromosom identisch sind.

Bei der ersten cytogenetischen Untersuchung des Walker-Carcinoms 1963 (WRBA, EICKE, MEINERS, 1964) wurde bei 61 % der ausgewerteten Zellen ein auffallendes Marker-Chromosom beschrieben, das sich durch eine heller gefärbte, also negativ heterochromatische Zone der längeren Arme auszeichnete und auch zweimal in einer Zelle vorkommen konnte. Ein Jahr später war dieses Element bei 95 % der Zellen zu finden. Weitere Markierungschromosomen sind zuweilen verschieden grosse Chromosomen mit medianer Stellung des Zentromers. In fast allen Zellen kommen noch 1 oder 2 sehr kleine telozentrische Elemente vor. Sie sind kleiner als das y-Chromosom der Ratte, dunkler gefärbt, eventuell positiv heterochromatisch.

Nun erhob sich die Frage, ob die beschriebenen konstanten Markierungschromosomen für den Karyotyp des Walker-Tumors charakteristisch sind, und in welcher Verteilung und Häufigkeit sie vorkommen. Es wurden deshalb 150 Zellen von W 1 und 137 Zellen von W 2 analysiert und zwar je ein Drittel Minusvarianten, ein Drittel Stammzellen und ein Drittel Zellen mit mehr als 64 Chromosomen.

Bei W 1 fanden sich alle 4 Markerchromosomen in 68 % der analysierten Stammzellen, bei W 2 erhöhte sich der Prozentsatz auf 78 %. Sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Untersuchung verminderte sich die Anzahl der Zellen mit diesen Chromosomen in der Gruppe der Minusvarianten, bleibt dagegen gleich bei den Plusvarianten.

Die Abweichungen von der Zahl der Markierungschromosomen sind am geringsten bei den Stammzellen.

Eine Stabilisierung des Walker-Carcinoms der Ratte im Laufe der Transplantationsgenerationen wird offensichtlich durch die sehr deutliche Stammlinie nach der 209. Passage, ausserdem durch eine Vermehrung der Zellen mit den Markierungschromosomen.

Die gering veränderte Modalzahl bei W 2 ist wohl auf eine Selektion mehr lebensfähiger Zellen zurückzuführen, die auch schon bei W 1 vorkommen.

Das Walker-Carcinom auf Goldhamstern (GW₁-GW₂)

Auch beim Walker-Carcinom auf Goldhamstern wurden die Ergebnisse zweier Untersuchungen verglichen. 64 % der 732 ausgewerteten Zellen von GW 1 (30.-40. Passage) hatten 61 bis 64 Chromosomen, wobei die Zellen mit 63 Chromosomen geringfügig überwogen (19 %). Bei nur 3 % der Mitosen fanden sich mehr als 100 Chromosomen, die Minusvarianten

beliefen sich auf 28 %, die Plusvarianten auf 6 % (WRBA, EICKE und MEINERS, 1964).

Da dieser Stamm inzwischen ausgestorben war, wurden in der 41. und 42. Passage eines neu von einer Ratte transplantierten Tumors (GW 2) die Chromosomen von 174 Zellen ausgezählt. Es ergab sich eine neue Modalzahl von 65 bei 32 % der Zellen. 74 % der Mitosen hatten 64-66 Chromosomen. Plus- und Minusvarianten betrugen 2 % und 14 %. Die Zahl der polyploiden Zellen hatte sich gegenüber GW 1 erhöht (10 %), die Hälfte davon waren Endomitosen.

Die Karyotypanalysen ergaben nur eine weitläufige Ähnlichkeit der Chromosomen zweier Stammzellen von GW 1 und GW 2 untereinander und mit den Karyogrammen von W 1 und W 2. Die Chromosomen einzelner Gruppen waren wie beim Stamm W unregelmässig vermehrt, andere vermindert. Auch beim Stamm GW waren die Markierungschromosomen auffällig konstant.

Trotz der etwa gleichen Passagenzahl der beiden Tumorstämme GW 1 und GW 2 war das Markierungschromosom mit der heterochromatischen Zone bei GW 2 wesentlich häufiger (94 %) als bei GW 1 (63 %). Bei etwa der Hälfte der Mitosen von GW 2 war es sogar 2 x vorhanden.

Die schon bei Besprechung des Walker-Carcinoms der Ratte beschriebenen Markierungschromosomen traten häufiger bei GW 2 als bei GW 1 auf.

Bei der Transplantation des Walker-Carcinoms der Ratte auf Goldhamster blieben also die charakteristischen Markierungschromosomen des Stammes W erhalten. Die Stammlinie veränderte sich geringfügig, das charakteristische Markierungschromosom trat sehr häufig 2 x in einer Metaphaseplatte auf.

Das Walker-Carcinom auf Mäusen (MW₁-MW₂)

Bei der Untersuchung in der 40.-65. Passage (MW 1) (WRBA, EICKE und MEINERS, 1964) zeigten 64 % der 791 ausgewerteten Zellen des Walker-Carcinoms auf Mäusen Chromosomenzahlen von 60-64. Ein kleiner Gipfel lag bei 62 Chromosomen (16 %). Die polyploiden Zellen kamen wie bei der Ratte und beim Goldhamster selten (4 %) vor. Die Minusvarianten waren mit 22 % etwa doppelt so häufig wie die Plusvarianten.

In der 106.-109. Passage (MW 2) dagegen hatte sich das karyologische Bild gewandelt. Die Modalzahl lag zwar immer noch bei 62, die Streuung der Chromosomenzahlen hatte sich jedoch sehr verringert. Dazu kam, dass 44 % der 268 ausgewerteten Zellen mehr als 100 Chromosomen hatten, auch hier traten, wie bei GW 2, gehäuft Endomitosen (16 %) auf. Es war anzunehmen, dass sich hinter dem hohen Prozentsatz polyploider Zel-

len noch eine oder die neue Stammlinie des MW 2 verbarg. Eine genaue Auszählung dieser Platten war jedoch wegen der ungenügenden Ausbreitung der Chromosomen nicht möglich.

Die Karyotypanalyse von 2 Stammzellen von MW 1 und MW 2 zeigt ähnliche Chromosomentypen wie bei W und GW. Das heterochromatische Marker-Chromosom tritt häufiger bei MW 2 auf (92 %) als bei MW 1 (78 %). Die Gruppe der 4 Markierungs-Chromosomen fällt durch ihre Konstanz auf. Während sie bei den Stammzellen und den Plusvarianten von MW 1 und MW 2 etwa die gleiche Häufigkeit erreicht, kommt sie bei den Minusvarianten des MW 2, also nach einer höheren Passagenzahl, deutlich öfter vor (48 %/78 %).

Noch etwas ist bei MW 2 auffallend: In 23 % der ausgewerteten Metaphaseplatten ist ein sehr grosses subtelozentrisches Chromosom zu sehen mit einer sekundären Einschnürung seiner längeren Arme. RUTISHAUSER (1963) berichtet über solche "st-Chromosomen", die bei den von ihm untersuchten Zellen des Walker-Carcinoms der Ratte regelmässig als Markierungschromosomen auftreten.

Die Modalzahl des Walker-Carcinoms auf Mäusen war nach 40 Passagen bereits stabilisiert und hatte sich seither nicht mehr verändert. Dagegen könnte eine 2. Stammlinie im Bereich des sechsfachen Chromosomensatzes der Ratte entstanden sein. Die Gruppe der 4 Markierungschromosomen trat parallel zur Modalzahl konstant auf. Dazu fand sich ein neues Markierungschromosom, das vielleicht selektive Vorteile für das Wachstum des Walker-Carcinoms auf der Maus bietet.

Zusammenfassung:

Beim Vergleich der 3 Tumorlinien des Walker-Carcinoms auf Ratte, Hamster und Maus zeigte sich übereinstimmend eine Häufung der Chromosomenzahlen im triploiden Bereich der Ratte. Die Modalzahl des Tumors änderte sich im Laufe der Transplantationen oder von Tierart zu Tierart geringfügig. Die Rate der polyploiden Zellen war im allgemeinen sehr gering, machte jedoch beim stabilisierten Mäusestamm einen erheblichen Prozentsatz der Tumorzellen aus. Interessant war auch das gehäufte Auftreten von Endomitosen bei MW 2 und GW 2.

Die Karyotypanalysen zeigten, dass sich die Stammzellen aller 3 Tumorlinien in ihren Chromosomen weitläufig ähneln, jedoch nicht dem dreifachen Chromosomensatz der Ratte entsprechen.

4 Markierungschromosomen konnten identifiziert werden, die offensichtlich für das Walker-Carcinom charakteristisch sind, auch bei der Heterotransplantation des Tumors nicht verschwinden und mit steigender Passagenzahl besonders bei den Stammzellen häufiger werden.

c) Der Mäuseascitestumor (MAT)

Die cytogenetische Analyse wurde an 167 Zellen dieses Tumors ausgeführt. 22 % der ausgewerteten Metaphaseplatten hatten 47 Chromosomen ($= s$). 29 % der Zellen waren Minusvarianten, 40 % Plusvarianten. Das Histogramm zeigte eine zweite Häufung der Chromosomenzahlen 90 bis 94. Nur 3 % der Zellen hatten über 100 Chromosomen.



ABBILDUNG 8

Karyogramm einer Stammzelle von MAT

Die Karyogrammanalyse der Tumorzellen (Abb. 8) zeigten konstante Markierungschromosomen: Ein grosses Chromosom mit medianer Stellung des Zentromers, das BAYREUTHER 1952 als B-Chromosom bezeichnet hatte, und das auch andere Forscher in ihren Untersuchungen beschreiben (ISING, 1958, RUTISHAUSER, 1963). Ein anderweitig häufig beobachtetes, grosses subterminales "A-Chromosom" mit einer quadratischen, achromatischen Lücke in seinen längeren Armen konnte bei dem untersuchten Stamm des MAT nur bei etwa 13 % der Zellen ausfindig gemacht werden. 3 sehr kleine, sogenannte "minute"-Chromosomen kamen regelmässig vor. Auffallend war ein Chromosom mittlerer Grösse, das deutlich abgesetzt von den beiden Chromatiden, proximal einen schwächer gefärbten Satelliten zeigte.

Nur 35 % der Minusvarianten enthielten die beschriebenen Chromosomen.

Ihr Markierungs-Prozentsatz stieg bei den s-Zellen auf 89, fast alle Plusvarianten (95 %) wiesen sie auf, und bei 65 % der Zellen mit 90 bis 100 Chromosomen waren die Markierungschromosomen doppelt vorhanden.

d) Der Krebs-2-Ascitestumor (K-2)

Nach den Angaben über die Herkunft und über die Ähnlichkeit verschiedener biologischer Eigenschaften von MAT und K-2 (HAUSCHKA und LEVAN, 1958) erwartet man ähnliche cytogenetische Charakteristika. Die Modalzahl der 257 untersuchten K-2-Metaphasen lag jedoch bei 73 Chromosomen (12 %). Die Minusvarianten betrugen 25 %, die Plusvarianten 17 %. 46 % aller Mitosen hatten mehr als 140 Chromosomen. Es ist naheliegend, eine zweite Stammlinie des K-2 im oktoploiden Bereich zu vermuten.

Die Verwandtschaft von MAT und K-2 lässt sich durch die Karyogrammanalyse (Abbildung 9) beweisen. Die Übereinstimmung im Hinblick auf die Markierungschromosomen der beiden Tumoren ist auffallend. Die Zellen des K-2 zeigten jedoch nur ein "minute"-Chromosom.



ABBILDUNG 9

Karyogramm einer Stammzelle von K-2

Zusammenfassung:

Die Stämme MAT und K-2, die beide wahrscheinlich aus Mamma-Carcinomen der Maus abgeleitet wurden, zeigten eine gute Übereinstimmung zwar nicht ihrer Modalzahlen, aber doch ihrer Markierungschromosomen.

e) Das Yoshida-Sarkom der Ratte (RS)

Es wurden 171 Tumorzellen ausgewertet. 46 % der Mitosen hatten 38 Chromosomen. Der Tumor zeigte also eine klare Stammlinie im hypodiploiden Bereich der Ratte ($2n = 42$). Der Prozentsatz der Minusvarianten war höher (33 %) als der der Plusvarianten (9 %). Nur 11 der untersuchten Metaphaseplatten hatten mehr als 100 Chromosomen.

Die Karyotypanalyse wurde an Stammzellen mit 38 Chromosomen durchgeführt. Dabei wurde der Versuch gemacht, die im normalen Rattenkaryogramm vorkommenden Chromosomentypen auch in der Tumormitose zu finden. Eine Paarung homologer Chromosomen war, wie bei allen bisher beschriebenen Tumoren, nicht möglich. Die Chromosomen der Gruppen 1-5 hatten sich verringert. Vor die telozentrischen Elemente der Gruppen 6-10 mussten noch Chromosomen eingeschoben werden, die ihrer Morphologie nach nicht im Chromosomensatz der Ratte vorkommen. Die Zahl der meta- und submetazentrischen Chromosomen der Gruppen 11-20 war, im Vergleich zur Ratte, kleiner. Auffällig war ein kleines telozentrisches Chromosom, das dem Y-Chromosom der Ratte entsprechen könnte. Es fanden sich regelmässig zwei Minutes, die noch kleiner als das X-Chromosom waren. Auffallend war überdies ein grosses metazentrisches Chromosom, das, zusammen mit dem y-Chromosom und dem Minute, in 92 % der untersuchten Metaphaseplatten auftrat.

Das Yoshida-Sarkom der Ratte im Heterotransplantat auf Mäusen (MS, MY)

Der Rattenstamm RS war in der 148. Passage auf Mäuse überimpft worden (MS). In der 1. Passage dieser Linie wurden 165 Zellen analysiert, um einen Einblick in die chromosomalen Verhältnisse des Tumors, sofort nach der heterologen Transplantation zu gewinnen.

Die Modalzahl des Stammes MS lag zur Zeit der Untersuchung bei 40 Chromosomen (26 %). Ein zweiter Gipfel mit 7 % fand sich bei 76 Chromosomen. 42 % der Mitosen waren Minusvarianten, 69 % Plusvarianten. Das Auftreten der zweiten Stammlinie erklärt diesen hohen Prozentsatz. Nur 1 % der Zellen hatten mehr als 100 Chromosomen.



ABBILDUNG 10

Karyogramm einer s_2 -Zelle von MS

Die genaue Chromosomenanalyse (Abb.10) wurde an Zellen mit 40 und 76 Chromosomen ausgeführt. Trotz der Transplantation auf Mäuse blieb die Chromosomenmorphologie des Ursprungstumors (RS) in etwa erhalten (Gr.18,19,20).

Die 3 Markierungschromosomen waren wieder dieselben wie beim Yoshida-Sarkom der Ratte: Sie traten in einem hohen Prozentsatz der Zellen auf (93 %), bei vielen Mitosen mit 60-90 Chromosomen auch in doppelter Anzahl.

Die zweite Stammlinie (s_2) des Yoshida-Sarkoms auf Mäusen (MS) weist 76 Chromosomen auf, also genau das Doppelte der s -Zahl des Stammes RS. Doch stimmten die Chromosomen einer solchen Mitose in Form und Zahl mit denen der s_1 -Zelle des MS überein. Auch die Markierungschromosomen waren verdoppelt, und nur bei den Gruppen 13-17 und 19-20 fehlte je ein Chromosomenpaar.

Unterlinie MY

Vom Ursprungstumor des Stammes MY (= Yoshida-Sarkom der Ratte RY) wurde keine cytologische Analyse durchgeführt. 186 Zellen des Yoshida-Sarkoms auf Mäusen wurde cytogenetisch untersucht. Die Modalzahl liegt bei 38 Chromosomen (40 %), genau wie beim Stamm RS. Der Prozentsatz

der Polyploiden ist ebenfalls ähnlich (20 %). Minusvarianten sind häufiger (25 %) als die Plusvarianten (16 %).

Bei der Karyotypanalyse von Stammzellen ergab sich ausserdem eine auffallende numerische und morphologische Übereinstimmung der Chromosomengruppen von MY und RS. Die Markierungschromosomen traten auch bei MY sehr häufig auf.

Zusammenfassung

Wenn man die Ergebnisse der cytologischen Untersuchungen am Yoshida-Sarkom der Ratte kurz zusammenfasst, stellt sich folgendes heraus: Alle 3 Tumorstämme, RS, MS und MY zeigen dieselben für das Yoshida-Sarkom offensichtlich charakteristischen Markierungschromosomen. Die Linie MS auf Mäusen weist in Zahl und Form ihrer Chromosomen einige Unterschiede zum Ursprungstamm RS auf, dieser aber stimmt mit der Linie MY, einer weiteren Unterlinie des Yoshida-Sarkoms (RY), im Hinblick auf seine chromosomalen Verhältnisse ausserordentlich gut überein.

f) Menschliche Tumorzellen in Ascitesflüssigkeit

Während es sich bei den bisher besprochenen Tiertumoren immer um "alte", stabile Geschwulststämme handelte, liegt der Fall bei den jetzt zu besprechenden menschlichen Tumorzellen in Ascites anders. Sie stammen von Primärtumoren, die sich durch eine weite Variation ihrer noch nicht selektiv beschränkten chromosomalen Gegebenheiten auszeichnen. Ihre Mitoserate ist verschwindend klein, die Zellen sind durch die intensive Behandlung mit Cytostatika, Hormonen und Strahlen irritiert, und die Präparation ist deswegen sehr schwierig. 27 mal stand Ascites- oder Pleurapunktat von Krebspatientinnen zur Verfügung; es gelang jedoch nur 12 mal, Tumormitosen in nativem Exsudat karyologisch auszuwerten und 4 mal, Tumorzellen, die einige Zeit in Kultur gewachsen waren, zu untersuchen (siehe Tabelle 2).

AT 5

Die 24-jährige Patientin starb trotz der hohen Dosen von Cytostatika, Hormonen und γ -Bestrahlung an den Folgen eines weitfortgeschrittenen Ovarial-Carcinoms, das ausgedehnte Lungenmetastasen verursacht hatte.

Zur Untersuchung kam klarer, gelblicher Ascites mit verhältnismässig vielen polymorphkernigen Tumorzellen. Es konnten 146 Mitosen ausgewertet werden, davon hatten 45 % mehr als 100 Chromosomen. Der Gedanke an eine Stammlinie im 5n- oder 6n-Bereich liegt nahe. Die Chro-

mosomenzahlen streuen sehr breit, 46 % der Zellen haben 36-78 Chromosomen, liegen also im hypodiploiden bis hypertriploiden Bereich. Eine klare Stammlinie ist nicht zu erkennen, die Mitosen mit 60 Chromosomen heben sich nur ganz wenig über das Niveau. Plus- und Minusvarianten halten sich etwa die Waage (4 %/5 %). Bei der Durchsicht der Mikrophotogramme waren nur wenige Veränderungen der Chromosomen zu entdecken: einige Chromatidenbrüche, wenige minute-Chromosomen.

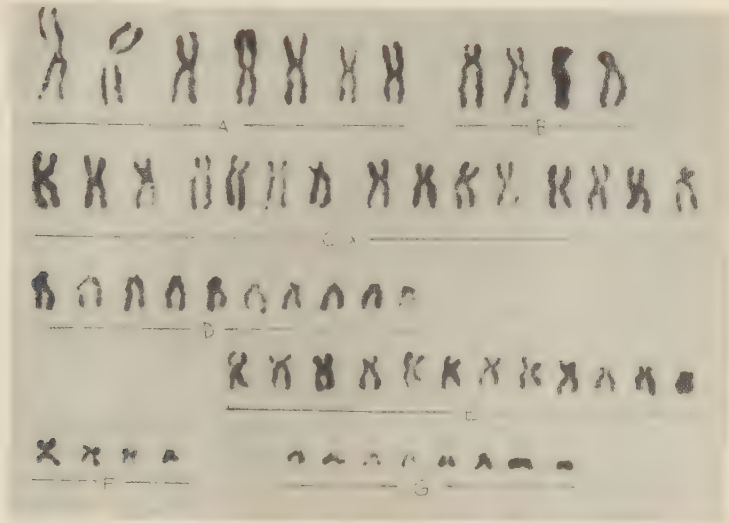


ABBILDUNG 11

Karyogramm einer Zelle von AT 5 mit 60 Chromosomen

Die Karyotypanalyse (Abb. 11) wurde an einer Zelle mit 60 Chromosomen durchgeführt, die einzelnen Elemente des Chromosomensatzes wurden nach dem System von HAUSCHKA, 1962, geordnet. Eine Paarung homologer Chromosomen war nicht möglich. In den Gruppen B und F waren die Chromosomen numerisch normal, es zeigten sich jedoch strukturelle Abweichungen. Die Gruppe C hatte weniger, A, D, E und G mehr Chromosomen als eine gutartige Zelle (Tabelle 3).

AT 23

Die 44-jährige Patientin, bei der ein Jahr zuvor ein fortgeschrittenes

Ovarial-Carcinom entfernt worden war, und bei der man multiple Metastasen festgestellt hatte, wurde während ihres Krankenhausaufenthaltes 4 mal punktiert. Die Behandlung bestand aus Radiumeinlagen und Röntgenbestrahlung, Cytostatika und Hormonen.

Es konnten 61 Mitosen ausgewertet werden. Im Histogramm ergab sich eine klare Stammlinie von Zellen mit 39 Chromosomen, also im hypodiploiden Bereich. Der Prozentsatz der Minus- und Plusvarianten betrug 19 % und 38 %. Nur 2 der Metaphaseplatten hatten über 100 Chromosomen. Bei 37 Zellen fanden sich minute-Chromosomen, bei 6 Zellen zeigte sich ein Chromosom mit sekundärer Einschnürung, auch einige Brüche der Chromatiden einzelner Chromosomen waren festzustellen.

Die cytologische Analyse einer Metaphaseplatte mit 39 Chromosomen ergab vor allem Minusabweichungen in den Chromosomengruppen A, B, C und D. Bei Gruppe E und F traten neue Chromosomen hinzu, G war numerisch normal, die Elemente dieser Gruppe waren aber morphologisch nicht so einheitlich wie bei einer normalen Zelle.

AT 54

Bei dieser Patientin fand sich ein inoperables doppelseitiges Ovarial-Carcinom, dazu multiple Metastasen. Die ersten Symptome traten etwa 5 Monate vor der Operation auf, dann wurde die Patientin mit Radium, Röntgenbestrahlung, Cytostatika und Hormonen behandelt.

Der klare, gelbliche Ascites enthielt bei der Untersuchung verhältnismässig viele Tumorzellen. Es konnten 93 Mitosen ausgewertet werden, von denen 25 % mehr als 100 Chromosomen aufwiesen. 11 % der analysierten Zellen hatten 58 Chromosomen. Da jedoch die Zellen mit 56-58 Chromosomen 24 % aller Mitosen ausmachten, ist es vielleicht besser, in ihnen die Repräsentanten der für diese Geschwulst charakteristischen Zellpopulation zu sehen. Die Minusvarianten belaufen sich auf 32 %, die Plusvarianten auf 19 %.

Die Chromatiden in fast der Hälfte aller Metaphaseplatten zeigten ein eigentümliches Aussehen, so als ob die Chromosomen den endgültigen Grad ihrer Spiralisation noch nicht erreicht hätten. Verbunden damit war bei einzelnen Chromosomen ein Auseinanderrücken der Chromatiden, wie es bei "C-Mitosen" beobachtet werden kann. Bei einigen Metaphaseplatten traten minute-Chromosomen etwa von der Grösse eines Zentromers auf. In mehr als 60 % der Mitosen fiel ein besonders langes Chromosom mit subterminaler Stellung des Zentromers auf. Man könnte es als charakteristisches Markierungschromosom dieser Geschwulst bezeichnen.

Stellt man wieder die Plus- und Minusabweichungen der Chromosomen der einzelnen Gruppen fest, so ergibt sich eine Zunahme bei C, D, E, F und G, eine Abnahme bei B. Gruppe A weist die normale Zahl auf, oh-

ne dass die Chromosomen eindeutig zu homologen Paaren geordnet werden könnten (Tabelle 3).

AT 96

Diese Patientin (43 Jahre) gab erst 1 Monat vor der Operation eines carcinomatös entarteten bilateralen Ovarialkystoms die ersten Beschwerden an. Sie wurde nach der üblichen Methode behandelt. Diffuse intraabdominelle Metastasen führten zur Bildung eines grünlichen klaren Ascites, der ziemlich viele charakteristisch maligne Zellen enthielt.

Es konnten 87 Mitosen ausgewertet werden. Das Histogramm zeigte eine breite Streuung der Chromosomenzahlen 20 bis 83, ohne eine deutliche Stammlinie. Es trat zwar ein kleiner Gipfel bei 37 Chromosomen auf (9 %), aber auch die benachbarten Zelltypen (37-42 Chromosomen) waren häufig (26 %). In diesem Fall gab es mehr Plus als Minusvarianten. Interessanterweise trat nämlich ein zweites kleineres Maximum bei 74 Chromosomen auf und deutet auf eine zweite Stammlinie hin.

Bei der Durchsicht der Mikrophotogramme fielen verhältnismässig viele Chromatidenbrüche, einige sehr kleine punktförmige Chromosomen und mehrere Translokationen auf.

Die Chromosomen der analysierten Stammzelle waren jedoch ohne solche Unregelmässigkeiten. Gestaltmässig stimmten sie recht gut mit normalen Chromosomen überein, es zeigten sich aber numerische Abweichungen nach unten bei allen Gruppen ausser bei F.

AT 39/59

Bei der 41-jährigen Patientin war einige Jahre zuvor ein Mamma-Carcinom entfernt worden. Etwa 2 1/2 Monate nach dem Auftreten einer abnormen Blutung wurde dann ein carcinomatös entartetes Ovarialkystom diagnostiziert. Metastasen fanden sich im anderen Ovar und vor allem im Netz. Die Patientin wurde auf die herkömmliche Weise mit Hormonen und Bestrahlung behandelt.

Sie musste einige Male punktiert werden, und die Tumorzellen konnten zweimal im Abstand von etwa 4 Wochen untersucht werden.

AT 39

Es konnten 68 Mitosen untersucht werden (Abbildung 12). 7 % davon wiesen mehr als 100 Chromosomen auf, 15 % der Zellen hatten 43 Chromosome, die benachbarten Zelltypen (41-47 Chromosomen) machten über die Hälfte (58 %) aller Metaphaseplatten aus. Im hypertetraploiden Bereich (85-88) zeigte sich eine 2. kleinere Spitze, Neben einer Endomitose waren minute-Chromosomen, sehr viele Chromatidenbrüche, einige Translokationen und viele C-Mitosen zu beobachten.

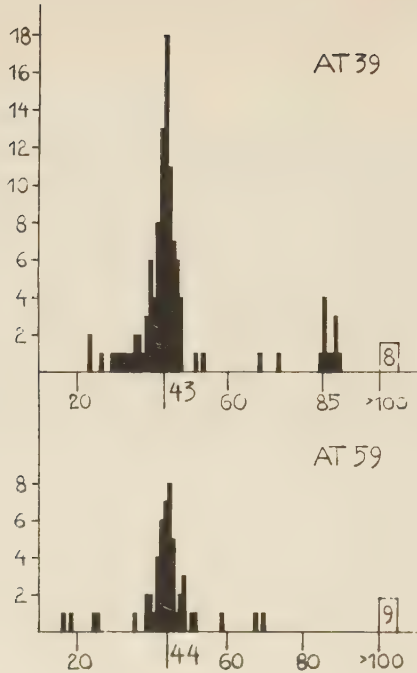


ABBILDUNG 12

Histogramm von AT 39 ($s = 43$) und von AT 59 ($s = 44$)

Die verhältnismässig normal gestalteten Chromosomen der analysierten Stammzellen konnten teilweise zu Paaren geordnet werden. In den Gruppen A, B und C waren die Chromosomenzahlen vermindert, D und G hatten die richtige Zahl, und bei E und F traten Plusabweichungen auf.

AT 59

26 Tage später kam von derselben Patientin wieder ein bernsteinfarbener, zellarmer Ascites zur Untersuchung. Nur 61 Mitosen wurden ausgewertet. Der Prozentsatz der Polyploiden betrug 15 %. Die Stammlinie bei 44 Chromosomen trat im Histogramm (Abbildung 12) nicht sehr deutlich heraus (11 %), denn auch die Zellen mit 41 bis 45 Chromosomen kamen sehr häufig vor (50 %). Der Prozentsatz der Plus- und Minusvarianten war jeweils 18 %.

Strukturelle Abweichungen der Chromosomen (Brüche, Minutes, Auseinanderrücken der Chromatiden, Translokationen) waren ebenso oft zu sehen wie bei AT 39.

Im Karyotyp (Abbildung 13) einer Stammzelle von AT 59 findet man andere Abweichungen als bei AT 39. Normale Chromosomenzahlen weisen die Gruppen B, C und G auf, die Chromosomen der Gruppen A, E und F sind verringert, die der Gruppe D vermehrt.



ABBILDUNG 13

Karyogramm einer Stammzelle von AT 59

AT 20/44

Bei der 40-jährigen Patientin war 6 Monate nach Auftreten der ersten Symptome ein Ovarial-Carcinom diagnostiziert worden, ausserdem Infiltrationen im kleinen Becken und (röntgenologisch nicht gesichert) wahrscheinlich auch in der Lunge. Sie war in der üblichen Weise behandelt worden und musste mehrere Male punktiert werden.

AT 20

Es waren nur 64 auswertbare Mitosen zu finden. 11 % davon waren polyploide Zellen. Eine Stammlinie deutete sich im Histogramm bei 45 Chromosomen an, die Platten mit 39-45 Chromosomen nahmen mehr als die Hälfte aller ausgewerteten Metaphaseplatten ein (51 %). Die Minusvarian-

ten waren mit 30 % etwa 4 mal so häufig wie die Plusvarianten. Es fand sich ein 2. Maximum bei 39 Chromosomen.

Man beobachtete bei vielen Mitosen Chromatidenbrüche und minute-Chromosomen.

Bei der Analyse des Karyogramms einer Mitose mit 45 Chromosomen waren die Elemente der Gruppen A, B und C verringert, die bei D, E und G hatten sich vermehrt, und die Chromosomen von F waren zwar numerisch, aber nicht morphologisch normal.

AT 44

Es gelang, die Tumorzellen der oben angeführten Patientin wenige Passagen lang in vitro zum Wachsen zu bringen.

Bei der cytogenetischen Untersuchung nach der 3. Passage hatten 28 % der ausgewerteten 70 Mitosen 46 Chromosome, und die Karyotypanalyse einer dieser Zellen ergab eine völlige Übereinstimmung mit dem normalen menschlichen Karyogramm. Die Plusvarianten waren zahlreicher (30 %) als die Minusabweicher (19 %), und 23 % der Metaphaseplatten hatten mehr als 100 Chromosomen. Es gab 4 Endomitosen mit je 92 Chromosomen.

AT 61

Von der 65-jährigen Patientin wurde ein Pleuraexsudat untersucht. 15 Jahre zuvor war ein Mamma-Carcinom entfernt worden, diesmal hatte man eine Totalexstirpation vorgenommen, wegen eines papillär-cystischen Adeno-Carcinoms beider Ovarien. Infiltrate des Beckens oder der Bauchhöhle wurden nicht diagnostiziert. Die Behandlung bestand aus Radiumeinlagen, Röntgenbestrahlung und Cytostatika.

Das klare, bernsteinfarbene Pleurapunktat enthielt viele Tumorzellen. 119 Mitosen konnten ausgewertet werden. Der Prozentsatz der polyploiden Zellen betrug 34 %. Das Histogramm zeigte einen kleinen Gipfel bei 42 Chromosomen, sonst aber eine breite Streuung der Chromosomenzahlen von 25 bis 92.

Bei 12 Mitosen wurden Chromosomen mit sekundärer Einschnürung beobachtet. Zudem gab es viele Brüche der Chromatiden und in einigen Zellen minute-Chromosomen.

Bei der Karyotypanalyse wurden Minusabweichungen in den Gruppen A, B und C sowie G gefunden und Plusabweichungen bei E und F. Nur die Gruppe C war numerisch normal, ohne dass jedoch eine Paarung homologer Chromosomen möglich gewesen wäre.

AT 81/86/108

Bei der 45 Jahre alten Patientin wurde ein undifferenziertes inoperables Ovarial-Carcinom mit Metastasen in der Bauchhöhle und in den Lungen diagnostiziert, 5 Monate nach dem Auftreten der ersten Symptome. Wegen ihres schlechten Zustandes konnte die Frau nicht bestrahlt werden, sondern wurde nur mit Cytostatika und Hormonen behandelt.

Vielleicht ist es auf diese Tatsache zurückzuführen, dass es gelang, die Tumorzellen über längere Zeit in vitro zu züchten. Eine cytogenetische Analyse der Tumorzellen im Nativpleurapunktat war unmöglich.

Die Untersuchung erfolgte an 48 Mitosen aus der 3. Passage in Kultur (AT 81). 19 % der Zellen hatten mehr als 100 Chromosomen. 60 % der Metaphaseplatten lagen im hypodiploiden Bereich (39-46 Chromosomen). Der Prozentsatz der Minusvarianten war mit 13 % nur wenig höher als der der Plusvarianten (8 %). Es fanden sich sehr wenige Mitose- und Chromosomenunregelmässigkeiten.

Im Karyogramm einer Zelle mit 41 Chromosomen hatten die einzelnen Elemente eine weitgehend normale Gestalt und liessen sich teilweise zu homologen Paaren ordnen. Die Gruppen B, F und G entsprachen numerisch der Norm, die Chromosomen der übrigen Gruppen hatten sich vermindert.

In der 6. Passage in vitro (AT 86) wurde wieder eine cytologische Untersuchung an 49 Mitosen ausgeführt. Das Histogramm hatte eine gewisse Ähnlichkeit mit dem von AT 81. Wieder lag ein hoher Prozentsatz (49 %) der Zellen im Bereich um die normale Chromosomenzahl (39-47), auch die polyploiden Mitosen traten in etwa derselben Häufigkeit (16 %) auf. Doch hatten die Minusvarianten (29 %) deutlich zugenommen, und nur 5 % der Platten hatten mehr als 47 Chromosomen.

Auch bei AT 86 wurden sehr wenige strukturelle Abweichungen festgestellt.

Der Karyotyp einer Zelle mit 40 Chromosomen zeigte jedoch nur wenig Ähnlichkeit mit dem der Zelle von AT 81. Man konnte einige Chromosomen zu Paaren ordnen. Die Elemente der Gruppen A, B, C und D waren verringert. Nur die Gruppe G war wie bei AT 81 numerisch und strukturell normal, während die Zahl der Chromosomen bei E und F erhöht war.

In der 10. Passage (AT 108) wurden die Tumor-Zellen noch einmal cytologisch untersucht. Die Kultur zeigte jetzt ein immer langsamer werdendes Wachstum, fibroblastenähnliche Zelltypen hatten zugenommen. Wieder Erwarten fanden sich jedoch bei der Analyse keine Diploidie der Mitosen, nicht einmal eine Stabilisierung einer bestimmten Zellart, sondern neue Veränderungen. Die meisten Zellen hatten Chromosomenzahler von 21 bis 45 (60 %), die Zellen mit 31 Chromosomen ragten nur geringfügig über das Niveau hinaus. Es traten mehr Mitosen auf, die Chromo-

somenzahlen im hyperdiploiden Bereich aufwiesen; die Plusvarianten überwogen mit 18 % gegenüber den Minusvarianten (8 %).

Brüche oder ähnliche Unregelmässigkeiten konnten nur selten beobachtet werden. Trotz der auffallenden Variationsbreite der Chromosomenzahlen schienen die Mitosen ganz normal zu sein. Interessant war das Auftreten von 4 Endomitosen, von denen zwei 34 und 54 Chromosomen hatten. Das Karyogramm einer Zelle mit 31 Chromosomen zeigt erwartungsgemäss eine Verringerung der Chromosomen in allen Gruppen, ausser in D.

AT 90

Die 63-jährige Patientin starb etwa 1 Jahr nach dem ersten Auftreten der Symptome eines Ovarial-Carcinoms. Daneben hatte sie noch ein stark entdifferenziertes primäres Collum-Carcinom. Die Behandlung bestand aus Radiumeinlagen, Röntgenbestrahlung und hohen Hormondosen.

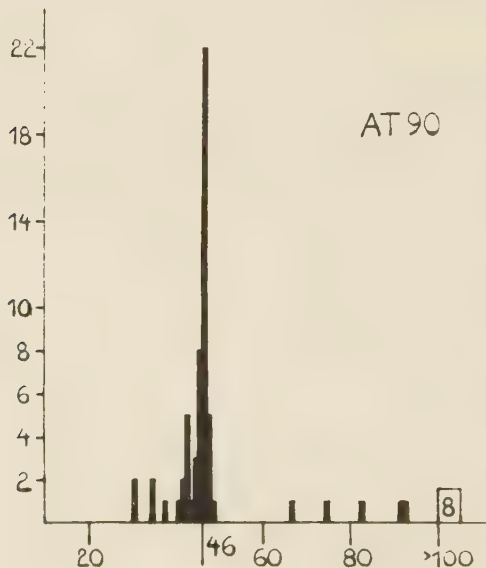


ABBILDUNG 14

Histogramm von AT 90 ($s = 46$)

Zur cytologischen Untersuchung kam hämorrhagisches Pleurapunktat. Es wurden 68 Mitosen ausgewertet. Das Histogramm (Abbildung 14) zeigt eine klare Stammlinie bei 46 Chromosomen. Die Minusvarianten waren mit 37 % häufiger als die Plusvarianten (19 %). Ein geringer Prozentsatz der Mitosen (12 %) hatte über 100 Chromosomen.

Nur sehr wenige strukturelle Veränderungen der Chromosomen wurden beobachtet.



ABBILDUNG 15

Karyogramm einer Stammzelle von AT 90 (Pseudodiploidie)

Die Karyotypanalyse (Abbildung 15) ergab interessanterweise, dass eine geringgradige Pseudodiploidie vorliegt. Trotz der anscheinend normalen Chromosomenzahl einer untersuchten Stammzelle waren die Chromosomen der Gruppen A und F in ihrer Zahl verringert, die der Gruppen B und E vermehrt, und nur die Chromosomen der Gruppen C, D und G waren numerisch und morphologisch normal.

AT 19/24/40

Ein undifferenziertes Collum-Carcinom mit Lebermetastasen, die einen Ikterus verursachten, wurde bei der 52 Jahre alten L.S. kurz vor ihrem Tode diagnostiziert. Die ersten Symptome waren 6 Monate zuvor aufge-

treten. Die Behandlung umfasste Radiumeinlagen, Röntgenbestrahlung und Cytostatika. Dreimal konnte ein gallig verfärbtes Ascitespunktat untersucht werden.

AT 19

Nur 65 Mitosen wurden ausgewertet, 13 % davon waren polyploide Zellen. Im Histogramm gab es eine grosse Streuung von Zellen mit 14 bis 98 Chromosomen und zwei kleine Maxima bei 46 und 65 Chromosomen.

Bei der Karyotypanalyse einer diploiden Zelle zeigte sich, dass die Chromosomen ganz denen einer normalen menschlichen Zelle entsprechen.

Die Analyse einer hypotriploiden Zelle mit 65 Chromosomen ergibt wieder die Plus- und Minusabweichungen in den einzelnen Gruppen; A, B und C hatten weniger Chromosomen als eine gutartige Zelle, D, E, F und G mehr.

AT 24

8 Tage später kam wieder ein Ascitespunktat dieser Patientin zur Untersuchung. Es wurden 87 Mitosen ausgewertet. Im Histogramm wurde eine gute Übereinstimmung sowohl der Streubreite als auch der Maxima bei 46 und 65 Chromosomen deutlich. Nur die polyploiden Zellen hatten sich vermehrt (25 %). Die Karyotypanalyse einer diploiden und einer hypotriploiden Zelle brachten dieselben Ergebnisse wie bei AT 19.

AT 40

23 Tage später konnte noch einmal ein Ascites der Patientin untersucht werden. Im Histogramm hatte sich die Modalzahl verschoben (60 Chromosomen). Die Stammlinie trat wesentlich klarer hervor. 23 % der Zellen hatten 60-63 Chromosomen. Die Minusvarianten machten 32 %, die Plusvarianten 11 % der ausgewerteten Mitosen aus. 23 % waren polyploide Zellen.

Abweichungen der Chromosomen (Brüche usw.) traten sehr häufig auf, auch die minute-Chromosomen hatten sich vermehrt.

Die 60 Chromosomen der analysierten Tumorzelle waren schwer in die verschiedenen Gruppen einzuordnen. Numerisch normal war nur die Gruppe A, Minusabweichungen fanden sich bei B, E und G, Plusabweichungen bei C, D und F.

Zusammenfassung der Ergebnisse der cytologischen Untersuchung menschlicher Tumoren in Ascitesform (Tabellen 2 und 3)

Nur 4 der 8 untersuchten Ovarial-Carcinome haben eine relativ klare Stammlinie (AT 54 = 58, AT 39 = 43/AT 59 = 44, AT 23 = 39 und AT 90 = 47). Es lässt sich jedoch kein Zusammenhang mit den klinischen

Daten finden.

Bei den übrigen 4 Ovarial-Carcinomen häufen sich die Zellen vor allem im Bereich von $n - 3n$.

Polyploide Zellen kommen vermehrt nur bei 2 der Geschwülste vor: AT 5 und AT 61. Die Modalzahlen der 8 Neoplasmen liegen bei 5 Fällen im hypodiploiden Bereich (AT 20/44, AT 39/59, AT 61, AT 23, AT 96). Ein Ovarialtumor ist pseudodiploid (AT 90). Die zwei übrigen Ovarial-Carcinome sind hypotriploid (AT 5, AT 54), ebenso das Collum-Carcinom (AT 19/24/40).

Als ein Sonderfall ist AT 81/86/108 zu betrachten, da die Tumorzellen erst nach längerem Wachstum *in vitro* analysiert wurden.

Wenn man die Plusabweichungen und die Minusabweichungen der Chromosomen aller cytologisch analysierten Tumormitosen zusammenfasst, zeigt sich folgendes interessante Ergebnis (Tabelle 3):

In den ersten 3 Gruppen, denen die grössten Chromosomen zugeordnet werden, treten bei der Mehrzahl der untersuchten Mitosen Minusabweichungen auf, während Plusabweichungen überwiegend in den letzten Chromosomengruppen mit den kleineren Elementen zu beobachten sind.

3. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

a) Numerische Veränderungen des Chromosomensatzes

Der erste, der die Chromosomenverhältnisse eines malignen Tumors beschrieb, war v. HANSEMANN 1890. Seitdem wurde in unzähligen Untersuchungen immer wieder ein hervorstechendes Kennzeichen des neoplastischen Wachstums genannt: die von der Norm abweichenden Chromosomenzahlen in maligne entarteten Zellen.

Natürlich lag es nahe, in diesen veränderten Zahlen nach irgendwelchen Gesetzmässigkeiten zu suchen, vielleicht auch einen Zusammenhang mit der Malignität von Tumoren zu erkennen.

Ermittelt man bei einer Gruppe beliebiger Individuen einer bestimmten Art die Chromosomenzahlen, so wird sich eine kennzeichnende Zahl ergeben, die somatische und diploide Chromosomenzahl. Sie beträgt genau das doppelte der gametischen oder haploiden Grundzahl der Chromosomen in den Ei- und Samenzellen, welche für jede Art charakteristisch ist.

Durch Veränderungen der Chromosomenzahl ergeben sich zwei Typen von Individuen:

1. solche, deren somatische Gesamtzahl ein Vielfaches der Grundzahl ist. Man nennt sie euploid. Der Chromosomensatz der Zellen des einzelnen Organismus kann dabei haploid, diploid, triploid usw. sein (n , $2n$, $3n$, ...).
2. Individuen, deren Chromosomenzahl sich auf ein unregelmässiges Vielfaches der Grundzahl beläuft, die also aneuploid oder heteroploid sind. Man wendet hier die Begriffe hypo- bzw. hyperdiploid usw. an.

Aneuploidie wurde von einigen Untersuchern auch in nicht malignen Geweben beschrieben. Z. B. sollen die Chromosomenzahlen im Uterusepithel des Menschen zwischen 4 und 100 variieren, und im Knochenmark und in der regenerierenden Leber ist die starke Variation der Chromosomenzahlen sehr auffällig (THERMAN und TIMONEN, 1951, NACHTSHEIM, 1960, TANAKA, 1958, GLÄSS, 1958). Diese Beobachtungen könnte man jedoch auch dahingehend beurteilen, dass die in jenen Jahren noch ungenügenden Präparationsmethoden Zählfehler verursachten (FORD, HAMERTON und MOLE, 1958). Dafür spricht vor allem die einseitige Verteilung der aneuploiden Zahlen, wobei die Minusvarianten überwiegen, und so auf eine Beschädigung der Metaphaseplatten bei der Präparation und auf einen Verlust von Chromosomen hinweisen. Der Beweis für diese Annahme ist erbracht: Durch verbesserte Untersuchungsmethoden konnte man den Prozentsatz der aneuploiden Abweicher in normalem Gewebe sehr verringern (TJIO and PUCK, 1958).

So darf man wohl annehmen, dass die Chromosomenzahlen normaler menschlicher und tierischer Gewebe, abgesehen von abnormer intraindividuelle Polyploidie, ziemlich konstant sind und nur ein geringes Ausmass aneuploider Variation aufweisen.

Die Chromosomensätze der meisten Tumoren stehen dazu in einem starken Gegensatz. Sie sind ganz eindeutig aneuploid, ihre Modalzahlen unterscheiden sich in vielen Fällen sehr deutlich vom ausgeglichenen diploiden Chromosomensatz der Ursprungstierart. Dazu kommt noch eine nennenswerte Streuung der Werte um die vorherrschende Chromosomenzahl.

Betrachtet man die Histogramme der in dieser Arbeit untersuchten Tumoren, so kommt man zu dem allgemein bekannten Ergebnis, dass die s -Zahlen, überhaupt die Chromosomenzahlen bei tierischen und menschlichen Neoplasmen von hypodiploid bis hypertetraploid variieren und dass -in wechselnder Häufigkeit, aber doch regelmässig- polyploide Zellen auftreten.

Über die Mechanismen der numerischen Variation hat man sich schon lange Gedanken gemacht. Besonders gut untersucht sind die Vorgänge, die zur Entstehung polyploider Zellen führen (GEITLER, 1953, LEVAN and HAUSCHKA, 1953, LEVAN, 1954, 1956, YOSHIDA, 1960, LEVAN and HSU, 1961).

Man unterscheidet heute vor allem 3 Mechanismen der Polyploidisierung:

1. Die C-Mitose

Seit man die cytologischen Wirkungen des Colchicins kannte, nannte man Mitosefiguren in unbehandelten Geweben, die diese Effekte zeigten (d.h. Hemmung der Spindelfunktion und Restitution der Chromosomen in einem Kern ohne Anaphase) C-Mitosen. Die Schwesterchromatiden rücken also nach einer normalen Pro- und Metaphase auseinander, ohne sich jedoch in der Anaphase auf 2 Tochterzellen zu verteilen. Die Cytokinese, d.h. die Durchschnürung des Cytoplasmas, bleibt aus, und die Chromosomen bilden, wenn die Telophase eintritt, einen doppelten diploiden Kern (Restitutionskern). Man kann solche C-Mitosen bei vielen Tumoren beobachten, die Tochterchromatiden liegen weit zerstreut im Cytoplasma.

2. Die Endomitose (Abbildung 16)

Sie unterscheidet sich von der normalen Mitose hauptsächlich dadurch, dass die Kernmembran während des ganzen Teilungszyklus erhalten

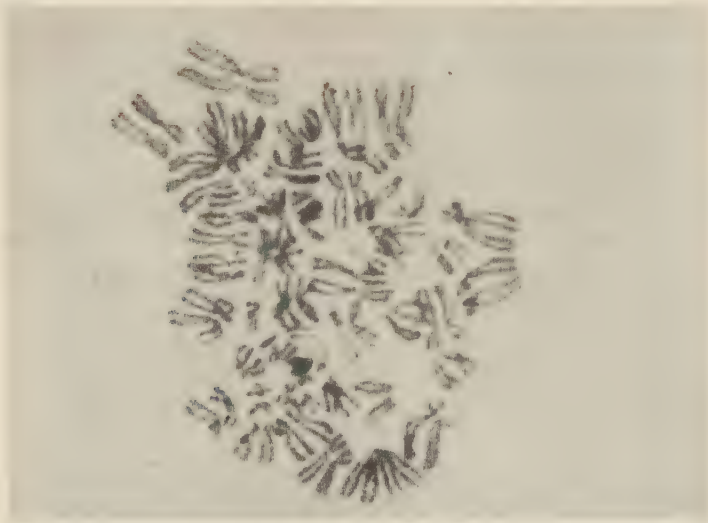


ABBILDUNG 16

Endomitose

Zu Beginn der Endoprophase bilden sich aus den Chromozentren nicht sehr deutlich die Chromosomen. Homologe Paare liegen nahe beieinander. Sie rücken jedoch im weiteren Verlauf der Prophase weiter auseinander. Dann erfolgt eine Kontraktion der einzelnen Elemente, die zur vollständigen Abrundung führen kann. Diese Phase stärkster Abrundung und Kontraktion ist zeitlich sehr kurz. Mit beginnender Anaphase lockern sich die Tochterchromosomen wieder auf, rücken nur wenig auseinander und bleiben in der Endotelophase nebeneinander liegen. Erfolgt auf eine Endomitose eine echte Mitose mit regulärer Spindelbildung, so wird sie mit der doppelten Chromosomenzahl durchgeführt. Die verdoppelten Chromosomen liegen dabei gelegentlich paarweise nebeneinander. Diese Anordnung könnte durch heterochromatische Verklebung zustande kommen, im "relational coiling" ihre Ursache haben oder auf einen festeren Zusammenhalt der Zentromeren zurückzuführen sein, da das Zentromer verspätet an der endomitotischen Teilung teilnimmt. Die Chromosomen treten in der folgenden Mitose daher zuweilen als Diplochromosomen auf.

3. Die Endoreduplikation

Bei diesem Typ der "inneren Verdoppelung" der Chromosomen findet die Teilung der Chromosomen während der Interphase statt, jedoch ohne irgendwelche sichtbaren Kennzeichen (= masked endomitosis). Sie wird erst sichtbar in der Prophase der folgenden Mitose. Nicht nur gelegentlich, sondern immer -im Gegensatz zur Endomitose- treten jetzt Diplo- bzw. Quadruplochromosomen auf. Nach der Trennung der Chromosomen in der Anaphase geht die Mitose normal weiter, und es entstehen Tochterzellen mit verdoppeltem Chromosomensatz.

Bei Filmaufnahmen von Tumorzellmitosen konnte man weitere Polyploidisierungsmechanismen beobachten (HSU and MOORHEAD, 1956):

1. Es erfolgt eine Degeneration der Spindel, dadurch fehlt die Verteilung der Tochterchromosomen.
2. Die Cytoplasmateilung beginnt ganz normal, doch die beiden Chromosomengruppen an den Polen vereinigen sich wieder im Zentrum.
3. Es wird eine unipolare Spindel ausgebildet, und alle Chromosomen bewegen sich auf einen Zellpol hin.
4. Die bereits fertig ausgebildeten Tochterzellen verschmelzen unmittelbar nach dem Abschluss der Cytokinese wieder miteinander.

Man nimmt an, dass Zellen mit Plus- oder Minusabweichungen eines oder mehrerer Chromosomen, sich auf dem Umweg über die Tetraploidie ausbilden (LEVAN and BIESELE, 1958, HAUSCHKA, 1961). Die Chromosomenzahlen einer diploiden Zellpopulation sollen zuerst verdoppelt, dann auf eine niedrigere heteroploide Zahl zurückgeführt werden. Für diesen Reduktionsvorgang kommen z. B. die multipolaren Spindeln in Frage. Die

Häufigkeit ihres Auftretens reicht jedoch nicht aus, um die Entstehung so vieler aneuploider Zellen zu erklären.

Ein anderer Mechanismus für die Entstehung heteroploider Chromosomenzellen wurde von GLÄSS (1956, 1957, 1961, 1962), allerdings mehr im Hinblick auf die geordnete Variation der Chromosomenzahl in der Leber diskutiert. Die Metaphasechromosomen gruppieren sich nach einem immer wieder auftretenden Muster in vollständige, aber zahlenmäßig unterschiedliche Genome. Die in diesen "Sonderungen" auftretenden Aneuploidiezahlen sind oft in den Mitosen der Rattenleber aufzufinden. Weiter wird die Möglichkeit abregulierender Amitosen bei polyploiden Zellen und aufregulierender partieller Endomitose besprochen.

Oft halten sich die aneuploiden Chromosomenzahlen einer Tumorzellpopulation jedoch in engen Grenzen um die diploide Zahl des Wirts. Man nimmt an, dass für den Verlust oder Gewinn nur weniger Chromosomen die Phänomene der "somatischen Nondisjunction" und des "lagging" verantwortlich sind.

Aus irgendwelchen Gründen wandern bei der Nondisjunction in der Anaphase beide Schwesterchromatiden eines oder mehrerer Chromosomen zum selben Pol, ohne sich auf die Tochterzellen zu verteilen. Eine der neu entstehenden Zellen hat dann mehr Chromosomen, die andere entsprechend weniger.

In der Anaphase können ausserdem noch einzelne Chromosomen liegenbleiben ("lagging"), ohne zu den beiden Polen zu wandern, und so eine Reduktion der Chromosomen beider Tochterzellen verursachen.

In den Mikrophotogrammen der menschlichen Tumorzellen wurden, wie schon erwähnt, oft eine Trennung der Chromatiden nur einzelner Chromosomen einer Metaphaseplatte beobachtet. Wenn man dies nicht schon für den Beginn der Anaphase ansehen möchte, könnte man auch dadurch eine Aneuploidisierung der Chromosomenzahl annehmen, eventuell auch eine Reorganisation des normalen Chromosomensatzes. Weiter konnten sehr häufig Gruppen von 2 bis 5 Chromosomen gesehen werden, deren Verlust (falls er nicht auf Präparationsfehler zurückzuführen ist, oder für die Ursprungszelle ein letales Ereignis bedeutet), dann eine Reduktion des Chromosomensatzes bedeutet.

Die Annahme von der Entstehung abweichender Chromosomenzahlen durch Polyploidisierung und nachfolgende Reduzierung ist sehr bestechend, und man könnte das Auftreten von Endomitosen bei AT 44 in diesem Sinne deuten. Die Tumorzellen des AT 20 waren in vitro wahrscheinlich durch normale Wirtszellen überwuchert worden, die das Bild in der cytologischen Analyse von AT 44 bestimmten. Die Endomitosen könnten jetzt ein Potential für aneuploide Chromosomensätze bilden, die im Laufe des Wachstums der Population entstehen.

Auch bei der Kurzzeitkultur anderer normaler Zellen (Hamster-, Ratten-

fibroblasten) fiel auf, dass verhältnismässig häufig Endomitosen nachweisbar waren. Dieselbe Erklärung wie oben liegt nahe, zumal da nach Langzeitkulturen gutartiger Zellen mit grosser Regelmässigkeit eine weitreichende aneuploide Variation der Chromosomenzahlen auftritt (LEVAN and BIESELE, 1958).

Die Endomitosen bei AT 108, die verhältnismässig wenige Chromosomen aufwiesen (43 und 54), könnten gewissermassen als Selbsthilfe der Zellpopulation angesehen werden. Die Chromosomenzahlen waren während der 10 Passagen immer mehr abgesunken. Die Stammzellen hatten schliesslich nur noch 31 Chromosomen. Das langsame Wachstum der Kultur könnte anzeigen, dass diese niedrige Modalzahl sich ungünstig auf die Zellteilung auswirkt, und die Endomitosen könnten da eine Abhilfe schaffen.

Bei den Stämmen des Walker-Carcinoms auf Goldhamstern (GW 2) und auf Mäusen (MW 2) treten ebenfalls plötzlich Endomitosen auf. Eine Deutung ist schwierig, es sei denn, dass hier die durch die Heterotransplantation des Tumors veränderten Umweltbedingungen zur Auswirkung kommen.

Besser zu erklären ist die Tatsache, dass in 40 % der Zellen des GW 2 das heterochromatische Markierungschromosom verdoppelt auftritt, wie es auch bei W 1 und GW 1 in einigen Fällen beobachtet worden war. Hier könnte eine Nondisjunction die Ursache sein. Der hohe Prozentsatz solcher Zellen wäre dann mit Selektionsvorgängen zu erklären, falls sie irgendwelche Wachstumsvorteile mit diesem Markierungschromosom gewonnen haben.

Sehr reizvoll ist der Versuch einer Deutung der Entstehung der Pseudotetraploidie beim Plasmocytom des Goldhamsters. Der Tumor hatte sich auf einem männlichen Tier mit einem x-Chromosom entwickelt und die Tumorzellen weisen in einem sehr hohen Prozentsatz 2 solcher Chromosomen auf. Noch dazu sind die Gruppen D und F bei den meisten Zellen genau verdoppelt. Es liegt also nahe, an den Anfang der Entstehung der malignen Plasmocytomzelle die Polyploidisierung einer gutartigen Wirtszelle zu setzen, die durch lagging, Nondisjunction oder aber strukturelle Veränderungen der Chromosomen im Laufe der Tumorentwicklung ihre endgültige genetische Gestalt erhalten hat.

Strukturelle Variationen des Chromosomensatzes

Mit dem Fortschritt der Präparationsmethoden erhielt man immer klarere Chromosomenbilder und konnte nun auch die Morphologie der Chromosomen genauer bestimmen. Da entdeckte man, dass bei malignen Tumoren auch strukturelle Veränderungen des Chromosomensatzes auftreten, die ihrerseits weiter zur Umwandlung des Karyotyps und damit des genetischen Materials maligner Zellen beitragen können. Aus genetischen

Untersuchungen an den Riesenchromosomen der Taufliege fasst man die chromosomalen Aberrationen, die zum Umbau, zum "rearrangement" des Genoms beitragen, in vier Klassen zusammen (SWANSON, 1960):

1. Defizienzen oder Deletionen

Ein Teil eines Chromosomenschenkels wird abgetrennt und kann -falls er kein Zentromer hat- verlorengehen.

2. Duplikationen

Ein überzähliges Chromosomenstück wird in irgendeiner Weise an ein Chromosom eines regulären Satzes angeheftet oder ist als Fragment vorhanden. Man kann sich die Entstehung auffallend langer Chromosomen mit Vermehrung des genetischen Gehaltes folgendermassen vorstellen: Azentrische Fragmente, durch Deletion entstanden, heften sich an die Telomeren, d.h. die Enden anderer Chromosomen an

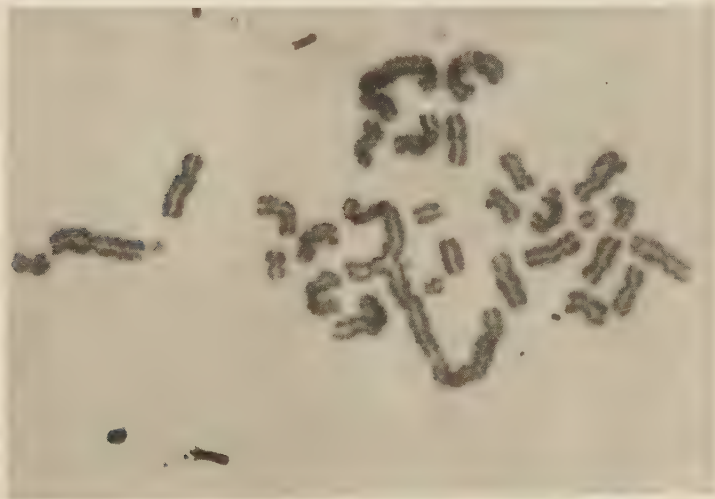


ABBILDUNG 17

besonders langes, durch Verklebungen und Translokation entstandenes Chromosom

Da solche Elemente bei einigen der untersuchten menschlichen Ascitestumoren zuweilen, bei einem Fall sogar ausserordentlich häufig

vorkommen (AT 54), könnte man annehmen, dass einer Tumorzellpopulation aus solchen Elementen ein besonderer selektiver Vorteil erwächst.

3. Inversionen

Durch Bruch der Chromatiden und Wiedervereinigung der Bruchstücke entstehen Chromosomen, bei denen ein Teil der Gene in umgekehrter Reihenfolge angeordnet sind. Natürlich kann ein solcher Umbau nur mit Hilfe von Testkreuzungen und nicht rein morphologisch ermittelt werden. Da Inversionen bei verschiedenen Pflanzen und Tieren in grosser Zahl festgestellt werden, ist anzunehmen, dass ihr Auftreten selektiv günstig ist und auch bei Tumorzellen eventuell veränderte, vorteilhaftere Stoffwechselverhältnisse hervorruft.

4. Translokationen

Einen Bruch zweier Chromosomen und die wechselweise Wiedervereinigung der Fragmente mit jeweils dem anderen Chromosom nennt man reziproke Translokation, "interchange", Austausch. Die entstehenden gestaltlich neuen Chromosomen können normal funktionieren, wenn jedes einzelne ein Zentromer besitzt. 1960 beschreibt SWANSON nach McCLINTOCK 1945 Translokationsringe, die in der Anaphase zu unterschiedlicher Verteilung der ausgetauschten Chromosomenstücke führen. 2/3 solcher Ringfiguren sollen letale Faktoren für die Zellen sein. Vielleicht war deshalb in den mehr als 3000 ausgewerteten Mitosen nur ein einziger Ring zu sehen. LEVAN (1956) fand dagegen sehr konstante Ringchromosomen bei menschlichen Lungen-Carcinomen.

Alle diese Neuordnungen des Chromosomenmaterials haben natürlich Konsequenzen für die Erbmasse. Sie kann jedoch auch durch mikroskopisch nicht mehr erfassbare Punktmutationen verändert werden. So könnte man die anscheinend normalen Chromosomenverhältnisse bei menschlichen und tierischen Tumoren mit der Forderung einer Veränderung des Genotyps bei neoplastischem Wachstum in Einklang bringen (NOWELL, HUNGERFORD und BROOKS, 1958, NOWELL und HUNGERFORD, 1960, BAYREUTHER, 1960).

Die beschriebenen Chromosomenaberrationen, die zum Umbau bestimmter Chromosomen beitragen, werden von LEVAN 1956 als kryptostrukturelle Variationen bezeichnet. Ob solche Variationen stattgefunden haben, kann man nur aus der genauen Karyotypanalyse ersehen. Vergleicht man z. B. die Chromosomen einer Zelle des Walker-Tumors mit denen einer normalen Rattenmitose, so sieht man, dass neben numerischen Veränderungen in den einzelnen Gruppen auch neue Chromosomentypen auftreten, die im Rattengenom nicht zu finden sind. Sie weisen auf solche kryptostrukturellen Variationen hin. Auch die Unmöglichkeit, die Chromosomen einer Tumorzelle zu homologen Paaren zu vereinigen, deutet auf solche

Mutationen hin, die mit einem Gestaltwandel der betroffenen Chromosomen einhergehen. Bei den Tumorzellen in menschlichen Asciten müssen zahlreiche strukturelle Veränderungen aufgetreten sein, wie die Karyogramme beweisen.

Von speziellem Interesse ist das Auftreten charakteristischer Marker-Chromosomen in den einzelnen Tumoren. Noch ganz am Anfang der cytologischen Forschungsarbeiten fielen grosse, V-förmige Chromosomen bei sehr vielen Mäusetumoren und auch bei normalen Mäusezellen in Langzeitkultur auf. Später stellte sich heraus, dass diese Elemente metazentrisch sind und auch bei Rattengeschwülsten als Markierungschromosom vorkommen.

In der vorliegenden Arbeit sind solche grossen metazentrischen Chromosomen beim Walker-Carcinom der Ratte und bei dessen heterotransplantablen Unterlinien zu finden, ferner beim Yoshida-Sarkom der Ratte und auch bei den Mäusetumoren MAT und K-2. Man diskutiert ihre Entstehung durch Verschmelzung zweier telozentrischer Elemente des Chromosomensatzes (YOSHIDA, 1955, SCHÜMMELFELDER und WESSEL, 1956). OHNO und seine Mitarbeiter (1960) glauben, das erste Auftreten eines solchen "B"-Chromosoms in einem Lymphomascites der Maus beobachtet zu haben: In einem während 18 Monaten transplantierten Ascitestumor, der 41 telozentrische Chromosomen aufwies, erschien plötzlich ein metazentrisches Chromosom zusammen mit einem partiell heterochromatischen minute-Chromosom. Man (auch LEVAN, 1956) ist der Ansicht, dass die beiden Elemente in einem gewissen Zusammenhang stehen: Durch Bruch am kurzen bzw. langen Arm zweier acrozentrischer Chromosomen und darauffolgender Translokation beider ungleicher azentrischer Fragmente entstand ein metazentrisches Chromosom, daneben ein Minute, das partiell heterochromatisch war, da es einen Teil des Heterochromatins eines Chromosoms mitbekommen hatte. Das Heterochromatin, über dessen Aufbau und Funktion man sich noch nicht ganz einig ist, liegt nämlich vor allem in der Nähe des Zentromers eines Chromosoms. Auch in der vorliegenden Arbeit treten bei den Ratten und Mäusen neben den grossen metazentrischen immer wieder Minutes auf.

Das gehäufte Auftreten der auffallend grossen metazentrischen Chromosomen gerade bei sehr vielen Maustumoren gab Anlass zu der Frage, ob sie nicht ein Charakteristikum des malignen Wachstums bei der Maus seien. Da sie aber auch in Rattengeschwülsten und in jüngster Zeit auch beim Menschen gefunden wurden, wäre wohl eher anzunehmen, dass bestimmte telozentrische Chromosomen unter gewissen Umständen die Tendenz haben, miteinander zu verkleben.

Von den Anfängen der cytogenetischen Forschungen an, wurde die Aufmerksamkeit der Wissenschaftler vom Heterochromatin in Anspruch genommen. Sein umstrittener genetischer Gehalt, die Fähigkeit zur "Organisation" der Nukleolen und sein auffälliges Auftreten in den Markierungs-

chromosomen mancher Tumoren lassen die Annahme zu, dass es gerade in Tumorzellen eine veränderte Stoffwechsellaage schaffen könnte.

In der vorliegenden Arbeit sind zwei Arten von heterochromatischen Chromosomen beschrieben: Beim Walker-Carcinom und bei MAT und K-2. 1956 hatten RUTISHAUSER und 1959 DARLINGTON und SHAW für eine bestimmte Pflanzenart gezeigt, dass sich heterochromatische Segmente durch Reduplikation kleinster intercalarer heterochromatischer Regionen vergrössern können und so sichtbar werden. Auf dieser Basis dürfte wohl auch der Ursprung der beschriebenen Markierungschromosomen erklärt werden.

1963 beobachtete RUTISHAUSER beim Walker-Carcinom der Ratte ein "st-Chromosom", ein kleines metazentrisches Element mit kurzer sekundärer Einschnürung oder heterochromatischer Zone. Wenn man die kryptostrukturellen Variationen für Umbau und Reorganisation auf chromosomaler Ebene verantwortlich macht, könnte es sich dabei um eine Abwandlung des bei W, GW und MW beschriebenen Markierungs-Chromosom handeln.

Im Laufe der Untersuchungen fiel auf, dass chromosomale Aberrationen (Brüche, Translokationen usw.) weniger bei den Tiertumoren als vielmehr bei den menschlichen Tumorzellen zu sehen waren. Man könnte diese Tatsache auf zweierlei Art und Weise erklären:

Die stabilen alten Linien der Tiertumoren haben die Periode der numerischen und strukturellen Variation bereits hinter sich gebracht, während die menschlichen Primärtumoren erst im Begriffe sind, sich durch Umwandlung ihrer Chromosomenverhältnisse gewissermassen auf das maligne Wachstum einzustellen. Eine weitere Erklärung für die auffallend häufigen Chromosomenaberrationen geben die Untersuchungen von BO-RENFREUND, KRIM und BENDICH 1964 und vielen anderen: Röntgenstrahlen und Cytostatika bewirken eine starke Kontraktion der Chromosomen, Brüche und Translokationsfiguren, "uncoiled" und "starved" Chromosomen, d.h. Chromosomen, deren Chromatiden ungenügend spiralisiert sind, oder deren Arme sich -ohne irgendeinen Hinweis auf eine heterochromatische Zone- ungleichmässig stark angefärbt haben.

Die Chromosomengarnituren von Tumorzellen werden im Verlaufe des Tumorwachstums durch Nondisjunction, lagging, Polyploidisierungsmechanismen, durch krypto- und makrostrukturelle Variationen verändert. Das führt zu einer Ansammlung sehr heterogener Glieder einer Zellpopulation, auf die die Umwelt in verschiedenster Weise einwirken kann.

Das Stammlinienkonzept

Was bei v. HANSEMAN 1890 und BOVERI 1912 eigentlich nur eine intuitive Spekulation war, bestätigten die grossartigen, mit einfachsten Mitteln durchgeführten Untersuchungen WINGEs 1927 und 1930, dessen geniale Theorie in den fünfziger Jahren von MAKINO, 1952 wieder aufgenommen und im Laufe eines Jahrzehnts von vielen Forschern mit eleganten Untersuchungen bekräftigt wurde:

Ein neoplastisches Gewebe unterscheidet sich von einem nicht malignen in der Mehrzahl der Fälle durch die chromosomale Heterogenität seiner Zellbestandteile. Die Chromosomen der Tumorzellen weichen numerisch und morphologisch vom Chromosomenbestand einer normalen Wirtszelle ab.

Diese chromosomal und damit wohl auch genetisch veränderten Zelltypen sind den Einflüssen der Umwelt unterworfen (Sauerstoffspannung, Nachschub von Aufbau- und Wachstumsstoffen, immunologischen Faktoren), die sich -je nach der Reaktion des Wirtes und den Bedingungen des Tumorrowachstums (Progression, Degeneration, Nekrose)- verändern können. Diese verschiedenartigen Bedingungen wirken nun selektiv auf die Tumorzellpopulation ein, und die am besten angepassten Zelltypen werden dominant. Sie bilden die Stammlinie des Tumors. Alle Zellen der Stammlinie haben dieselbe Chromosomenzahl (Modalzahl oder "fundamental number") und meist auch eine weitgehend übereinstimmende Chromosomenmorphologie. Sie bestimmen die kennzeichnenden Eigenschaften des Tumors (MAKINO, 1956), also Wachstumsrate, Wirtsspezifität, Resistenz gegen Cytostatika und Strahlen und andere mehr.

Die Zahl der übrigen Zelltypen gibt gewissermassen einen Massstab für den Grad ihrer Angepasstseins. Sie sind für die Geschwulst jedoch keineswegs nutzlos, sondern bedingen eines der wichtigsten Kennzeichen des neoplastischen Wachstums, die "adaptive Plastizität" (LEVAN and HAUSCHKA, 1953). Bei irgendwelchen Veränderungen der Umwelt können Zellen, die vorher den Stammzellen selektiv unterlegen waren, dominant werden - eine neue Stammlinie des Tumors erscheint. Die Vielzahl genetisch verschiedener Zelltypen gewährleistet demnach eine grössere Überlebenschance für das Neoplasma als die strenge Konstanz einer Zellart. Man könnte also von einem Fließsgleichgewicht der Tumorzellpopulation sprechen.

Es ist durchaus möglich, dass sich ein besonders gut adaptiertes genetisches Muster in einem Tumor über Jahre hinaus und trotz veränderter Umweltbedingungen konstant erhält. So fand man beim Landschütz-Tumor nach 4 Jahren immer noch die gleiche Stammlinie, dieselbe Verteilung benachbarter Zelltypen und auch eine weitgehende strukturelle Übereinstimmung der Chromosomen (TJIO and LEVAN, 1954, HANSEN-MELANDER, KULLANDER und MELANDER, 1956, ISING, 1958). Bei der Unter-

suchung des Walker-Carcinoms in dieser Arbeit konnten eine gleichbleibende Stammlinie und dieselben Markierungschromosomen trotz heterologer Transplantation des Tumors auf Hamster bestimmt werden (W 1, GW 1, s = 63). MAKINO and SASAKI (1958) behandelten das Yoshida-Sarkom mit Chemikalien und berichteten über eine konstante Stammlinie, weil die sehr lebenskräftigen Stammzellen die Giftwirkung überleben konnten und zu neuem Tumorwachstum führten.

Schon 1951 und 1952 hatten MAKINO und KANO diesen Rattentumor auf Mäuse transplantiert und nach einigen Tagen keine chromosomalen Veränderungen gefunden. ISING (1955 und 1958) betont jedoch, dass chromosomale Veränderungen nur sehr langsam und schrittweise entstehen, und so sind jene Ergebnisse nur begrenzt zu werten, da die Analyse jeweils schon kurze Zeit nach der Heterotransplantation erfolgte. Dieselben Einschränkungen müssen auch bei den Resultaten der Analyse von RS, MS und MY in vorliegender Arbeit gemacht werden.

Wenn dagegen STROND et al. 1957 (nach ISING) nach 40-50 heterologen Passagen von MAT und KREBS-2 auf Ratten keine Veränderungen der Stammlinie fanden, und auch ISING (1958) beim Yoshida-Sarkom nach 120 Passagen auf Mäusen noch dieselbe Modalzahl bestimmen konnte, so sind diese Ergebnisse schon bedeutsamer und beweisen besser, dass eine bedeutende Konstanz eines bestimmten Chromosomenmusters gut möglich ist.

Immer wieder treten jedoch Veränderungen des Chromosomenkomplexes tierischer transplantabler Tumoren auf.

BAYREUTHER (zit. nach ISING 1958) berichtete 1958 über methylcholanthren-induzierte Mäuse-Sarkome. Die Tumoren waren auf isologe Mäuserestämme übertragen worden und trotzdem entstanden Unterlinien, die sich in ihrer Stammlinie, in der Ploidiestufe und in der Zahl ihrer Marker-Chromosomen unterschieden.

Strukturelle und numerische Abweichungen des Chromosomensatzes treten auch bei homologer Transplantation auf, also bei Übertragung der Tumorstämme auf genetisch verschiedene Wirte der gleichen Art. LEVAN und HAUSCHKA (1952) beschrieben einen fast tetraploiden Ehrlich-Tumor mit telozentrischen Chromosomen, nach einigen Passagen dieser Geschwulst auf japanischen Mäuserestämmen fand YOSHIDA (1924) plötzlich mittelgrosse metazentrische Elemente im Komplement und ISING berichtete dann 1958 über grosse metazentrische Markierungschromosomen in den Stammzellen.

Es scheint also eine Verschiebung des cytologischen Variationsmusters eines Tumors dann einzutreten, wenn er von einem Tierstamm, an den er adaptiert war, auf Tiere anderer genetischer Konstitution übertragen wird. Diese Verschiebung kann sich sowohl numerisch als auch strukturell auswirken.

Zuweilen kommt es auch zu einer Verschiebung der Ploidiestufe: KAZIWARA (1954) übertrug ein hyperdiploides EAC ($s = 45, 46$) auf partiell immunisierte SWISS-MICE und erhielt einen Tumorstamm, der bis zu 90 % tetraploide Zellen aufwies (90, 92).

Man wird den Effekt der Veränderung des chromosomalen Musters einer Tumorzellpopulation auch bei heterologer Transplantation erwarten. Dieser Erwartung entsprechen sehr gut die Ergebnisse der Versuche ISINGS (1955, 1957, 1958): Nach der Übertragung auf Hamster sank die mittlere Chromosomenzahl pro Zelle zweier Stämme des EAC von 79,1 auf 77,5 bzw. von 79,7 auf 72,4. Gleichzeitig erfuhr die strukturelle Zusammensetzung der Tumorchromosomen eine Veränderung; Das Auftreten fast metazentrischer Marker-Chromosomen unterschied den Tumorstamm auf Hamstern vom Parentalstamm. ISING schliesst aus der langsamen schrittweisen Manifestierung der Veränderungen und aus der Wiederholbarkeit der Versuche, dass eine Selektion neuer Zelltypen stattgefunden hat, und zwar auf Grund des veränderten Milieus.

In der vorliegenden Arbeit wurde über eine chromosomale Konstanz zweier Tumoren bei homologer Transplantation über mindestens 1/2 Jahr berichtet (GP, MW 1-MW 2). Es fanden sich jedoch auch Verschiebungen der Modalzahlen bei homologer Übertragung (W 1-W 2, GW 1-GW 2), und trotz heterologer Transplantation eines Tumors (W -- GW) konnte eine gleichbleibende Stammlinie bestimmt werden.

Die beschriebenen Untersuchungsergebnisse werfen nun die Frage auf, wodurch die Verschiebung des Musters der Tumorchromosomen zustandekommt. Einige Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten auf die Einwirkung der Selektion hin: Während der Transplantation auf homologe und heterologe Wirte veränderte sich die Stammlinie des Walker-Carcinoms der Ratte geringfügig. Die Zelltypen, die jetzt dominant geworden waren, wurden beim Ursprungsstamm (W 1) des Tumors auch schon beobachtet.

Die Karyotypen der Unterlinien wiesen auch dieselben Markierungschromosomen auf wie der Parentalstamm. Diese Marker-Chromosomen scheinen Gene zu enthalten, die für das Wachstum des Walker-Carcinoms auch in Heterotransplantaten von selektivem Vorteil sind, denn ihr Prozentsatz steigt mit den Transfergenerationen. Es liegt also nahe, eine Auslese bestimmter Zellgruppen einer Geschwulst durch die veränderten Umweltbedingungen anzunehmen.

Ein weiterer wichtiger Beweis für diese Annahme ergibt sich aus einer interessanten Beobachtung:

Im Walker-Carcinom auf Ratten (W 1) fanden sich einzelne Zellen, die das heterochromatische Markierungschromosom doppelt enthielten. Bei der Übertragung des Tumors auf Hamster (GW 2) hatte sich die Modalzahl bei der Untersuchung in der 41. und 42. Passage deutlich verändert,

auch trat die Stammlinie im Histogramm sehr viel deutlicher zutage. Und jetzt fanden sich bei fast der Hälfte aller Zellen 2 Markierungschromosomen.

Im Gegensatz zu den jederzeit wiederholbaren Versuchsergebnissen von ISING (1958) waren diese Veränderungen bei einem anderen Unterstamm des Walker-Carcinoms auf Hamstern (GW 1) nicht aufgetreten.

Man könnte dies jedoch so erklären:

GW 1 war sehr viel früher von der Ratte auf Hamster transplantiert worden als GW 2. Es hatten also in der Zwischenzeit auch beim Stamm W selektive Prozesse stattfinden können, die dann eine veränderte Zellpopulation des Tumors bei der Transplantation von GW 2 ergaben.

Bei der genauen Karyotypanalyse der Stammzellen der untersuchten Tumorstämme ergaben sich Befunde, die nicht für eine Selektion schon vorhandener Zelltypen bei der Verschiebung einer Tumorstammlinie sprechen, sondern auch auf genetische Veränderungen, auf Mutationen hinweisen, die Einfluss nehmen können auf die Progression des Tumors.

Wie besonders LEVAN und seine Mitarbeiter nachgewiesen haben, (LEVAN und HAUSCHKA, 1953) unterscheiden sich verschiedene Tumorstämme nicht nur durch die s-Zahlen und durch das Vorhandensein oder Fehlen bestimmter Markierungschromosomen, sondern auch durch mannigfaltige kryptostrukturelle Abweichungen der Chromosomensätze. Die Ausbildung einer neuen Stammlinie kann nicht allein durch Gewinn oder Verlust einzelner Chromosomen erreicht werden. Zahlreiche intra- und interchromosomale Translokationen weisen noch auf mutative Veränderungen des Karyotyps der Stammzellen hin.

Die strukturellen Unterschiede der Stammzellen der verschiedenen Unterlinien des Walker-Carcinoms zeigen, dass auch Mutationen an der Ausbildung neuer Stammlinien beteiligt sind, wenn man Genmutationen mit chromosomalen Veränderungen gleichsetzt. Ob solche mutativen Vorgänge durch heterologe Übertragung vermehrt ausgelöst werden, oder ob die Mutationsrate in Tumorzellen dadurch nicht verändert wird, lässt sich bisher noch nicht sagen.

Dass Chromosomenmutationen in Transplantaten tatsächlich vorkommen, zeigen die Versuchsergebnisse bei Einzellinokulationen.

Die extreme cytogenetische Polymorphie von Tumorzellpopulationen macht es unmöglich, bestimmte Tumoreigenschaften, z.B. Wirts-Spezifität, Wachstumsgeschwindigkeit oder Resistenz gegen Cytostatica charakteristischen Chromosomenkomplementen zuzuordnen. Man hat deswegen versucht, aus jeweils einer Tumorzelle genetisch einheitliche Stämme zu züchten. Die cytogenetische Untersuchung der entstandenen "Klone" ergab aufschlussreiche Resultate (SANFORD, EARLE und LIKELY, 1948, HAUSCHKA, 1954, MAKINO und KANO, 1955, MAKINO, 1956, HAUSCH-

KA and LEVAN, 1958, RUTISHAUSER, 1963):

Die Stammlinie der neuen Unterlinien war meistens dieselbe wie beim Parentalstamm, auch die Markierungschromosomen wiesen auf die Herkunft der Tumoren hin. Doch bei jedem "Klon" zeigte sich eine fast ebenso bereite Streuung der Chromosomenzahlen wie beim Ursprungsstamm. Offensichtlich ist dieser Gleichgewichtszustand erstrebenswert für eine Tumorzellpopulation. Die Veränderungen des Chromosomensatzes erfolgen wieder durch Polyploidisierung, Nondisjunction usw. und besonders durch strukturelle Umordnungen innerhalb des Genoms.

Man wird demnach wie in der Genetik, so auch in der Cytogenetik Mutation und Selektion als wichtigste Faktoren für die Weiterentwicklung einer Geschwulst annehmen müssen. Auf Grund der durch die Umwelt bedingten Veränderungen des Chromosomenbestandes (hier allgemein "Mutation" genannt), des genetischen Materials, weiter der Auslese besonders lebenskräftiger Mutanten, passt sich der Tumor der Umgebung an. Dabei tritt ein "Fluktuieren um eine genetische Standardkombination" (RUTISHAUSER) auf, ein wesentliches Merkmal aller untersuchten Tumoren, das viele Angriffspunkte für die Selektion bietet und die Plastizität des malignen Gewebes gewährleistet.

Ein gutes Beispiel einer Zellpopulation, an deren Ursprung und Weiterentwicklung Mutation und Selektion in besonderem Masse beteiligt sind, ist nach KLEIN und seinen Mitarbeitern (1951, 1954, 1955, 1956) und vielen anderen jeder Ascitestumor.

Eigentlich ist dieser Name nicht ganz richtig gewählt, da die Ascitestumoren keine eigene Gruppe innerhalb der malignen Gewächse bilden, und da das Wachstum maligner Zellen in Suspension auch noch in anderen Körperhöhlen vorkommen kann. KLEIN and KLEIN forderten 1956, dass dieser Begriff beschränkt bleiben sollte auf Tumoren, bei denen eine aktive Vermehrung freier Zellen und/oder Zellkomplexe in Exsudaten vorkommen kann und zu hoher absoluter und relativer Tumorzellkonzentration führt, also zu einer fast reinen Kultur.

Ein Ascitestumor ist eine Assoziation zweier Phänomene, die ätiologisch zusammenhängen, aber wesentlich verschieden sind:

1. Anreicherung von seröser, chylöser oder hämorrhagischer Flüssigkeit in einer Körperhöhle durch die Implantation von Tumorzellen.
2. Wachstum freier Tumorzellen nach ihrer Transformation aus autonomen Tumorgewebe.

Tumorzellen induzieren also eine Ascitesbildung, wenn sie in eine bestimmte Zone der Serosa implantiert werden, während eine "Umwandlung" in freiwachsende Zellen von ihrem Wachstumspotential oder auch von ihrer grösseren Adaptationspotenz abhängt. Die Bildung von Ascites ist bestimmt

von der Umgebung der Tumorzellen, ihr freies Wachstum von ihrer Autonomie.

Aus den sehr folgerichtig angelegten Versuchen von KLEIN und KLEIN 1956 geht hervor, dass nicht alle Zellen eines soliden Tumors die Fähigkeit zu freiem Wachstum besitzen. Es geschieht keine graduelle physiologische Adaptation der gesamten Tumorzellen an die neue Umgebung, sondern seltene Mutanten werden durch Selektion angereichert.

Die cytogenetischen Untersuchungen zeigen dann, dass auch die Ascitestumorzellen, die in einer Hinsicht funktionell einheitlich scheinen, durch eine breite chromosomale Variation der Selektion ausgesetzt sind.

Die Verschiedenheit in Zahl und Morphologie der Chromosomen ist für fast alle Tumoren gegeben. Jede Geschwulst weist eine bestimmte Stammelinie, meist im diploiden bis tetraploiden Bereich, auf. Innerhalb dieser Grenzen scheint es keine besonders bevorzugten Regionen zu geben. Auffallenderweise variiert das cytogenetische Muster auch in Neoplasmen desselben Organes vom gleichen Tier. Die Frage, ob bei Tumoren derselben Herkunft wenigstens ähnliche strukturelle und numerische Umwandlungen des Chromosomenkomplementes vor sich gehen, lässt sich bis jetzt noch nicht mit Sicherheit beantworten.

Man kann aber bei Ratten- und Maustumoren bestimmte Kennzeichen feststellen, die eventuell spezifisch sind: So beobachtet man bei den meisten Ratten-Ascites-Tumoren eine deutliche Tendenz zur Hypodiploidie, während viele Mäuse-Ascites-Carcinome hyperdiploid sind. Plausible Erklärungen dafür sind bis heute nicht möglich.

Einen Sonderfall unter den Ascitestumoren stellen die menschlichen Tumorzellen in Exsudaten dar. Schon dadurch, dass sie von malignen Geschwülsten der Bauchorgane stammen, oder auf dem Lymph- bzw. Blutwege in die Bauchhöhle eingewandert sind, unterscheiden sie sich grundlegend von den überimpften Tiertumoren.

Weiterhin handelt es sich um Zellen relativ junger Geschwülste im Gegensatz zu den alten, oft transplantierten stabilen Tierneoplasmen. Das zeigt sich auch ganz klar bei der cytogenetischen Untersuchung.

Die Streuung der Chromosomenzahlen liegt im Bereich von hypoploid bis tetraploid; polyploide Zellen sind seltener als bei Tiertumoren.

Meist ist keine klare Stammlinie ausgeprägt, oft zeigen sich mehrere kleine, auch gleich hohe Gipfel.

Die Chromosomenzahlen der in dieser Arbeit besprochenen menschlichen Ascitestumoren streuen vor allem im diploiden Bereich. Man kann daraus wohl nicht eine charakteristische Ploidiestufe, z.B. des Ovarial-Carcinoms ableiten, denn andere Untersucher solcher Tumoren (ISHIHARA et al., 1962, MAKINO et al., 1964, HANSEN-MELANDER et al., 1956)

berichten über Modalzahlen auch in den 3n- und 4n-Regionen. Auch 2 der hier untersuchten Ovarial-Carcinome haben hypotriploide Stammlinien.

Wenn man nach einer Erklärung für das so bunte Variationsmuster bei menschlichen Tumoren in Ascitesform sucht, bietet sich wieder das Ausleseprinzip an:

Ganz zu Anfang des Tumorwachstums herrschten wohl noch konstante Umweltbedingungen für alle malignen Zellen. Durch den Wachstumsdruck auf den Wirt ruft die Geschwulst schnell Veränderungen ihres äusseren und inneren Milieus hervor, z.B. Anoxie, Ernährungsstörungen, Abwehrmassnahmen des Wirtes.

Diese physiologischen Gradienten beeinflussen die Selektion zufälliger Mutanten des Chromosomensatzes. Weiterhin werden dann einige besonders wachstumspotente Zellen in der Ascitesflüssigkeit schweren Proben auf ihre Lebensfähigkeit ausgesetzt, wobei sich auch hier das Milieu dauernd ändert, sowohl durch die Progression des Neoplasmas und die Reaktion des Wirtes darauf, als auch durch die medikamentöse und Strahlenbehandlung. So ist es sehr gut möglich, dass sich genetisch unterschiedliche Tumorzellen gleichermassen bewähren. Deshalb wird keine klare Stammlinie ausgebildet, wie unter den konstanten Versuchsbedingungen bei den transplantablen Tiertumoren.

Trotz solcher Umweltänderungen können sich jedoch auch relativ konstante, chromosomale Befunde bei wiederholter Untersuchung des Exsudates von Krebspatienten, finden. Die Resultate der cytogenetischen Analyse von AT 19/24/40 und AT 39/59 bieten ein solches Beispiel.

Interessant und nicht ganz leicht zu deuten ist ein Befund bei AT 19/24 und bei AT 44.

Bei zwei von drei Ascitespunktaten einer Patientin mit Collum-Carcinom traten neben aneuploiden, wohl auch carcinomatös zu bezeichnenden Zellen, auch ganz normal erscheinende, echt diploide Mitosen auf.

Nun gibt es Forscher, die meinen, für die maligne Entartung sei primär nicht unbedingt auch ein sichtbarer, strukturell-abweichender Chromosomensatz notwendig (KAPLAN, 1959, SACHS und GALLILY, 1956, OHNO et al., 1959, BAYREUTHER, 1960, WAKONIG, 1960). KANO (1953) stellte jedoch fest, dass bei Ratten normale Wirtszellen in grosser Zahl in der Bauchhöhle erscheinen, wenn die mitotische Aktivität durch intraperitoneale Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, verschiedenen Chemikalien oder Tumorzellsuspensionen angeregt wurde. Vermutlich ist auch in dieser Richtung die bimodale Stammlinie des Walker-Carcinoms der Ratte zu deuten, die auftrat, als eine Zellkultur dieses Tumorstammes auf Ratten übertragen wurde (EICKE, MEINERS, WRBA, 1964).

Ebenso könnte es sich bei AT 19/24 um normale, vielleicht Entzündungs-

zellen handeln, die in die Bauchhöhle eingewandert und im Ascites suspendiert waren, und sich dann bei der Verarbeitung des Untersuchungsmaterials einer Teilung unterzogen, die durch die Colcemidgabe gehemmt wurde.

Im Folgenden wird der Versuch einer Erklärung für die klare Stammlinie bei 46 Chromosomen gemacht, nachdem die Tumorzellen von AT 20 in Kultur genommen worden waren (= AT 44).

Schon bei der Betrachtung von Tumorzellkulturen mit der Lupe fallen immer wieder neben den polygonalen malignen Zellen auch einige gestreckte, fibroblastenähnliche Elemente auf. Sie können sich im Laufe einiger Passagen stark vermehren und die Tumorzellen überwachsen.

So war es auch bei AT 44. Nach der 3. Passage überwogen die fibroblastenähnlichen Zellen. Sie wurden als normale Zellen mit diploidem Chromosomensatz identifiziert. Einige gutartige Zellen, die sich neben den bösartigen Zellen im Ascites befanden, entwickelten nach einiger Zeit eine erhöhte mitotische Aktivität und wurden so wahrscheinlich auf Grund ihrer besseren Wachstumspotenzen *in vitro* dominant.

Man könnte diesen Befund auf die drastisch veränderten Umweltbedingungen zurückführen, die durch Inkulturnahme der Zellen geschaffen worden sind.

Ganz anders verhielten sich die Tumorzellen einer anderen Ovarial-Carcinom-Patientin *in vitro*.

Es fanden sich nach 4 (AT 81), 6 (AT 86) und 10 (AT 108) Passagen keine normalen, sondern nur aneuploide Metaphaseplatten. Die Streuung der Chromosomenzahlen war bei allen 3 Untersuchungen breit und bei AT 81 und AT 86 einigermassen übereinstimmend.

Bei dem einheitlichen Milieu des Kulturmediums hätte man eine Selektion irgendeiner Stammlinie erwarten können, zumal da verhältnismässig wenige Chromosomenaberrationen beobachtet wurden. Die Tumorzellen teilten sich jedoch in immer längeren Abständen und zeigten in ihren Chromosomenzahlen eine Tendenz in Richtung minus $2n$, die vielleicht als Zeichen des langsamen Absterbens der Kultur gedeutet werden kann.

Das Problem der Malignität aus cytogenetischer Sicht

In vielen Arbeiten, die sich mit der Cytogenetik der Tumoren befassen, wird heute angenommen, dass die Veränderung der normalen zur neoplastischen Zelle eine Veränderung der zellulären Vererbung einschliesst. Einige Forscher führen die Malignität zurück auf Umwandlung nicht vom Kern kontrollierter Gene im Cytoplasma (DARLINGTON and MATHER,

1949), wieder andere auf die Interferenz bestimmter Virusnukleinsäuren mit der Aktivität spezifischer Gene. WARBURG (1956) sieht in einer Störung der Mitochondrien und damit respiratorischer Mechanismen der Zellen den Ursprung des Krebswachstums. Sehr oft werden auch verlorene Antigene und damit erhöhte Wachstumspotenzen der Zelle verantwortlich gemacht für die maligne Entartung (GREEN, 1957).

Alle diese Theorien interpretieren spezielle Fälle des neoplastischen Phänomens. Das genetische Material im Kern, das Cytoplasma mit all seinen Bestandteilen und den Organismus, als geordneten Verband vieler Zellarten, stehen aber nicht als in sich abgeschlossene Systeme nebeneinander, sondern weitgreifende Wechselbeziehungen verbinden sie. So lassen sich die meisten Theorien der Carcinogenese auf einen Nenner bringen: Auf die endogen oder exogen erzeugten Veränderungen des genetischen Materials einer Zelle, die zur malignen Entartung führen.

Hinweise auf Beziehungen zwischen dem Erbgut und der Umwelt ergaben sich aus Forschungen über die Gewebedifferenzierung bei der Entwicklung.

MORGAN (in HAUSCHKA, 1961) verlegte den Nachdruck von der autonomen Funktion des genetischen Materials einer Zelle bei der Entwicklung mehr auf ein Einwirken physiologischer Bedingungen der Umwelt: Eine Zelle wird das, was sie ist, hauptsächlich durch den Ort, an dem sie ist.

Auch BRINK (1960) stellte die Genaktivität unter extrachromosomale Einflüsse: Im Chromosom sind zwei engst verbundene genetische Einheiten enthalten: Das Orthochromatin bleibt qualitativ konstant in allen Kernen des Individuums. Es umfasst die DNS für die zahllosen Enzyme, die spezifische Reaktionen der Proteinsynthese katalysieren. Das Parachromatin fluktuiert quantitativ, je nachdem verschiedene Substrate während der Entwicklung verfügbar werden. Es aktiviert dann das Orthochromatin in Antwort auf die veränderten Gegebenheiten des sich entwickelnden Organismus.

Damit sind nur zwei von vielen ähnlichen Forschungsergebnissen über die enge Wechselbeziehung zwischen genetischem Material und der im Laufe der Differenzierung sich verändernden Umwelt aufgezählt.

SCHULTZ (1958) geht noch einen Schritt weiter: Er nimmt die Möglichkeit an, dass während der Histogenese irreversible Veränderungen des Erbgutes auftreten, die eine Herabsetzung der genetischen Aktivität der spezialisierten Zelle bedingen. Einige Chromosomen verhalten sich demnach genetisch indifferent und vollziehen nur noch ihre eigene Replikation.

SCHULTZ hält die Malignität für eine "Aberration des Prozesses der Differenzierung" und nicht für eine Folge der sehr viel seltener vorkommenden Mutationen.

Es werden also je nach der Funktion einer Zelle bestimmte Chromosomen

oder Chromosomenteile genetisch stumm und haben nur noch die Fähigkeit, sich selbst zu verdoppeln (HARRIS, 1964). Durch irgendeinen Anstoß von aussen wird dieser Vorgang der Differenzierung fehl- oder rückgesteuert, und die Zelle ist maligne geworden.

Diese Hypothese von SCHULTZ ist sehr einleuchtend, besonders wenn man die Untersuchungsergebnisse beim Plasmozytom und die der Karyotypanalysen der menschlichen Tumorzellen betrachtet. Beim Plasmozytom sind einige Zellgruppen sehr konstant vorhanden, was vielleicht auf ihre genetische Notwendigkeit für die Zellen hindeuten könnte, während die anderen Chromosomen für das Überleben und die Funktion weniger wichtig sind.

Die Tabelle 3, eine Zusammenfassung der cytologischen Analyse einiger Tumorzellen, könnte etwa in derselben Art interpretiert werden:

Die Verringerung der Chromosomenzahl in den ersten Gruppen weist vielleicht auf ihre genetische Inaktivität hin, sie sind leichter entbehrlich für die Tumorzelle.

Eine interessante Auffassung vom Vorgang der Krebsentstehung ergab sich aus der Beobachtung von Zellen verschiedenster Herkunft *in vitro*.

Das Verhalten gutartiger Zellen in Gewebekultur ähnelte derartig dem von Tumorzellen, dass es zur Zeit als Modell der Entwicklung neoplastischen Wachstums *in vivo* gilt (LEVAN and BIESELE, 1958).

Aus solchen Experimenten geht hervor, dass eine durch irgendwelche Faktoren veränderte Umwelt genotypische Variationen bei gesteigerter Aktivität der betroffenen Zellen begünstigt (Präcanceröses Stadium, Hyperplasie). Erst viel später entsteht dann, infolge der schrittweisen Selektion, ein Komplex zellulärer Mutanten, die fähig sind zu autonomem Wachstum.

Chromosomale Unregelmässigkeiten gehen *in vitro* der Malignität voran. Sie werden *in vivo* durch eine strenge Kontrolle des Organismus ausgeschaltet. Es können aber verschiedenartige carcinogene Faktoren diese Kontrolle aufheben.

Eigenartigerweise gehen die Chromosomenvariationen nun bei der malignen Entartung *in vitro* und bei transplantablen Tumoren *in vivo* nach demselben Muster vor sich:

Diploidie (evtl. Pseudodiploidie) $\longrightarrow$ Polyploidisierung (Zellen mit höherer Chromosomenzahl stellen wegen der grösseren Anzahl der Genloci ein besonders geeignetes Material für die Selektion dar) $\longrightarrow$ Plus/Minus-Tetraploidie $\longrightarrow$ Plus/Minus-Diploidie (HAUSCHKA, 1961, ISHIHARA et al., 1964). Die Frage, ob diese Ähnlichkeit der Chromosomeninstabilität bei menschlichen und tierischen Tumoren nun zufällig ist oder eine wirkliche Aussage bedeutet, muss durch immer mehr cytologische Befunde entschieden werden.

In den letzten 20 Jahren, als die Cytogenetik einen so grossartigen Aufschwung nahm, wurde immer wieder darauf hingewiesen, dass es notwendig sei, Material zu sammeln, die Ergebnisse zu vergleichen und so vielleicht die grossen Fragenkomplexe zu beantworten:

Wie ist der genetische Gehalt der einzelnen Chromosomen besonders beim Menschen?

Kann man das neoplastische Wachstum auf die Veränderungen des Erbgutes einer Zelle zurückführen, und welcher Art ist diese Veränderung?

In dieser Arbeit sollte ein solcher Beitrag zur Sammlung von cytogenetischem Untersuchungsmaterial geleistet werden. Viel Arbeit wird noch nötig sein, bis das Ziel erreicht ist, denn trotz der Vielzahl und Vielfalt der Ergebnisse erhaschte man bis jetzt nur "a furtive glimpse of the genetic sceleton in the somatic closet" (HAUSCHKA, 1958).

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Es wird auf einen vielleicht möglichen Weg zur Lösung des Krebsproblems hingewiesen, auf die cytogenetische Untersuchung von Ascitestumoren.
2. Anhang einer Literaturübersicht wird die Entwicklung der cytogenetischen Forschung aufgezeigt.
3. Zum Verständnis der möglichen Fehlschritte bei der Zellteilung wird über die Vorgänge während der normalen Mitose und über den Aufbau der Chromosomen berichtet.
4. Die cytogenetische Untersuchung eines β -Plasmocytoms des syrischen Goldhamsters in Ascitesform ergibt eine klare Stammlinie des Tumors im tetraploiden Bereich des Hamsters, daneben ein zweites Maximum im Bereich der polyploiden Zellen. Karyotypanalysen decken eine Pseudotetraploidie und die Konstanz eines bestimmten Chromosomenmusters bei den Stammzellen auf.
5. Eine nochmalige cytologische Analyse des bereits beschriebenen Walker-Carcinoms der Ratte und der Unterlinien dieses Tumors auf Mäusen und Ratten, zeigt Stammlinie im triploiden Bereich der Ratte, die sich sowohl bei den Heterotransplantaten als auch in grösseren Passagenabständen nur unbedeutend verschieben. Der Befund eines heterochromatischen Markierungschromosoms wird mit Hilfe eingehender Karyotypanalysen noch um andere charakteristische Chromosomen erweitert.
6. Ein cytogenetischer Überblick über 2 Mäusetumoren in Ascitesform, MAT und K-2 deutet anhand auffallender, bei beiden Tumoren auftretender Markierungschromosomen auf eine Verwandtschaft beider Geschwülste hin.
7. Die Untersuchung des hypodiploiden Yoshida-Sarkoms der Ratte ergibt kennzeichnende Markierungschromosomen, die auch nach Heterotransplantation des Tumors auf Mäuse erhalten bleiben, während sich die Stammlinien dieser Unterlinien vom Parentaltumor unterscheiden.
8. Die Tumorzellen in den Ergüssen von 8 Patientinnen mit Ovarial-Carcinomen und 2 Frauen mit Cervix-Carcinomen zeigen bei der cytogenetischen Untersuchung nur in 4 Fällen relativ klare Stammlinien, sonst aber Chromosomenzahlen, die breit zwischen n bis $3n$ streuen. Karyogrammanalysen von Stammzellen der einzelnen Tumoren ergeben charakteristische Plus- und Minusabweichungen in den einzelnen Chromosomengruppen. Daneben fallen gehäuft auftretende Aberrationen der Chromosomen auf. Es lassen sich keine Beziehungen dieser Befunde zu irgendwelchen klinischen Daten finden.

9. Anhand des Schrifttums und der Ergebnisse der vorliegenden karyologischen Untersuchungen an Tumorzellen werden verschiedene Mechanismen der numerischen und strukturellen Veränderungen des Chromosomensatzes bei malignen Zellen diskutiert. Dabei wird der Versuch unternommen, die Entstehung der Pseudotetraploidie beim Plasmocytom, der verschiedenen Markierungschromosomen und der strukturellen Abnormitäten der menschlichen Tumormitosen zu deuten.
10. Aus der Literatur und den vorliegenden Befunden wird auf die bestehende Hypothese der Stammlinien von Tumoren hingewiesen. Es wird über Veränderungen der Stammlinien einzelner Tumorstämme, möglicherweise durch Umweltveränderungen, und auf Konstanz der Stammlinien trotz Milieuwechsels berichtet. Für menschliche Tumorzellen aus Ergüssen gilt das Stammlinienkonzept nur bedingt, weil wegen stark wechselnder Milieueinflüsse Mutation und Selektion nicht so klar in Erscheinung treten.
11. Es werden die Vorstellungen verschiedener Forschungsgruppen über die Entstehung malignen Wachstums aufgezeigt. Der Versuch einer Zusammenschau dieser Vielzahl von Deutungen der Neoplasie zeigt die Notwendigkeit, weiterhin Material und Ergebnisse zu sammeln und zu sichten.

D. T A B E L L E N

TABELLE 1

Ergebnisse der Karyotypanalysen von 90 Plasmocytommitosen

	Chromosomenzahlen		
	88	89	90
% Zellen mit Konstanz der Chromosomengruppen D, E, F und ?X	56	45	35
% Zellen mit Veränderung in einer dieser Gruppen	32	40	40
% Zellen mit Veränderungen in mehreren dieser Gruppen	12	15	25

TABELLE 2
Untersuchungsergebnisse mit klinischen Daten

Fall-Nr.	Patientin Alter Geburtsort	Exsudat	Diagnose	1. Symptome vor	Behandlung	angewendete Mikrosom	häufigste Chromosomenzahl (n-Zahl)	polyploide Zellen	Bemerkungen
AT 5	S.B./44 1 e	Aszites klar gelblich	Ovarial-Ca. Metastasen Lungen	?	Radium/Röntgen Testosteron Testosteron Podophyllin	146	30-78 (60)	45 %	wenige Brüche, einige Minus-Chromosomen
AT 33	A.H./44 3	Aszites hämorrhagisch	fortgeschrittenes Ovarial-Ca. Operation multiple Lungen- metastasen	3 Jahre	Radium/Röntgen Endoxan Testosteron	61	30 = 30 %	3 %	klare Stammlinie, sehr viele Minus-Chromosomen, einige Chromosomen mit sekundärer Kontinuität
AT 54	H.H./33 1	Aszites klar gelblich	inoperables undifferen- ziertes Ovarial-Ca. Metastasen Melane Becken, Lungen	6 Monaten	Radium/Röntgen Endoxan Testosteron	98	56-68 (58)	25 %	auffallend langes, subtelozent- risches Marker-Chromosom bei 51 Zellen
AT 94	A.B./43 1	Aszites klar, grünlich	Ovariallytom Operation bilateral, intraabdominelle und Lungenmetastasen	20 Monaten	Radium/Röntgen Endoxan Testosteron	87	37-42 (37) 2. Gipfel bei 74	8 %	Chromatidenbrüche, Minus- Chromosomen, Translokationen
AT 39 1. Punktat 17 Tage später AT 39 2. Punktat	L.H./41	Aszites klar, gelblich	papilläres Ovarially- tom, Metastasen Niere, Leber 4 Jahre zuvor: Mamma-Ca. Operation	3 Monaten	Radium/Röntgen Testosteron	88 61	43 = 15 % 2. Gipfel bei 85-88	7 %	Minus-Chromosomen, Brüche, Translokation, Endomitosen, klare Stammlinie!
AT 30 Tumorzellen in vitro 3. Passage: AT 44	H.G./40 3	Aszites klar, grünlich	Ovarial-Ca. Metastasen Melane Becken, 1 Lungen	6 Monaten	Radium/Röntgen Testosteron Testosteron	64 70	39-45 (46)	11 %	Chromatidenbrüche Minus-Chromosomen
AT 61 Tumorzellen in vitro	M.H./35 3	Pleurapunktat klar, gelblich	papillär-cystisches Adeno-Ca. beider Ovarien. Operation, 15 Jahre vorher Mamma- Ca. Operation	?	Radium/Röntgen Endoxan	119	sehr breite Streuung (42)	34 %	viele Brüche, sekundäre Konstru- ktionen, Minus-Chromosomen
AT 81 4. Passage AT 86 6. Passage AT 100 10. Passage	J.R./45 2	Pleurapunktat hämorrhagisch	undifferenziertes inope- rables Ovarial-Ca., Metastasen Lungen und Bauchhöhle	5 Monaten	Testosteron Endoxan	48 49 78	39-68 (40) 39-47 (43) 21-45 (31)	10 % 16 % 13 %	wenige Aberrationen! Endomitosen
AT 90 AT 19 1. Punktat 8 Tage später AT 34 2. Punktat 23 Tage später AT 40 5. Punktat	M.W./33 4 +	Pleurapunktat hämorrhagisch	Ovarial-Ca. + Collum-Ca., Lungenmetastasen	1 Jahr	Radium/Röntgen Testosteron	68 65 87 70	46 = 32 % 44/65 44/65 60-68 (60)	13 % 13 % 26 % 15 %	Pseudodiploidie! Stammlinie klar! Zellen mit 46 Chromosomen = echt diploid, Brüche, Minus- Chromosomen, Translokationen

TABELLE 3

Veränderungen der Chromosomenzahlen in den einzelnen Gruppen der Karyogramme von Tumorstammzellen

Fall-Nr.	Diagnose	s-Zahl	Ploidiestufe	Veränderungen der Chromosomenzahlen in den Gruppen						
				A	B	C	D	E	F	G
AT 19	Cervix-Ca.	65	hypotriploid	-	-	-	+	+	+	+
AT 24		65	"	-	-	-	+	+	+	+
AT 40		60	"	■	-	+	+	-	+	-
AT 5	Ovarial-Ca.	60	"	+	■	-	+	+	■	+
AT 54	Ovarial-Ca.	58	hyperdiploid	■	-	+	+	+	+	+
AT 90	Ovarial-Ca. und Collum-Ca.	46	pseudodiploid	-	+	■	■	+	-	■
AT 20	Ovarial-Ca.	45	hypodiploid	-	-	-	+	+	■	+
AT 59	Ovarial-Ca.	44	"	-	■	■	+	+	+	■
AT 39	Ovarial-Ca. und Mamma-Ca.	43	"	-	-	-	■	+	+	■
AT 61	Ovarial-Ca. und Mamma-Ca.	42	"	-	-	-	■	+	+	-
AT 81	Ovarial-Ca.	41	"	-	■	-	-	-	■	■
AT 86		40	"	-	-	-	-	+	+	■
AT 108		31	"	-	-	-	■	-	-	-
AT 23	Ovarial-Ca	39	"	-	-	-	-	+	+	■
AT 96	Ovarial-Ca.	37	"	-	-	-	-	-	+	-
				12-	11-	11-	4-	5-	3-	4-
				1+	1+	2+	7+	10+	9+	5+
				2■	3■	2■	4■	0■	3■	6■

E. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- AHLSTRÖM, C.G.: Heterologous transplantation of cancer
Z. Krebsforsch. 61, 584, 1957
- ARNOLD, J.: Beobachtungen über die Kernteilungen in den Zellen von Geschwülsten.
Virchows Arch. Path. Anat., 78, 279, 1879
- BAUER, K.H.: Mutationstheorie der Geschwulstentstehung. Übergang von Körperzellen in Geschwulstzellen durch Genänderung.
Springer, Berlin, 1928
- BAYREUTHER, K.: Chromosomes in primary neoplastic growth.
Nature 186, 6, 1960
- BAYREUTHER, K.: Discussion of chromosome behaviour in tumor cells.
In: Cell physiology of neoplasia pp.38
Austin University of Texas Press, 1960
- BOOTHROYD, E. and B.E. WALKER:
Xomatic chromosome numbers in mice.
Records Genetics Soc. America 21, 11, 1952
- BORENFREUND, E., M. KRIM and A. BENDICH:
Chromosomal aberrations induced by hypotritite and hydroxylamine derivatives.
J. Nat. Cancer Inst. 32, 667, 1964
- BOVERI, T.H.: Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren.
Jena: Gustav Fischer, 1912
- BOYES, J.W.: Human X-chromosome arm ratios and percentages of total complement length.
Am. J. Human Genet. 3, 104, 1961
- BRINK, R.A.: Paramutation and chromosome organization.
Quart. Rev. Biol. 35, 120, 1960
- BUSCH, H.: An introduction to the biochemistry of the cancer cell.
Acad. Press, New York, London 1962
- CARLSON, J.G.: On the mitotic movements of chromosomes.
Science, 124, 203, 1956
- DARLINGTON, C.D.: and K. MATHER:
Genes, plants and people.
London, 1949

- DARLINGTON, C. D. and G. W. SHAW:
Parallel polymorphism in the hetero-chromatin of
Trillium species.
Heredity 13, 89, 1959
- DEMEREC, M.: The nature of the gene.
Am. Hum. Genet. 13, 122, 1961
- EHRlich, P.: Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen
Arb. Kgl. Inst. Frankf./M. 1, 77, 1906
- EHRlich, P. und H. APOLANT:
Beobachtungen über maligne Mäusetumoren.
Berlin. Klin. Wschr. 42, 871, 1905
- EICKE, J., M. -L. MEINERS und H. WRBA:
Veränderungen der Stammlinie von Walker-Carci-
nomzellen durch Umweltfaktoren.
Z. Krebsforsch. 66, 193, 1964
- EICKE, J., A. EMMINGER, Ch. STRAUSS, U. MOHR und H. WRBA:
Cytogenetisch-karyologische Studien an klinisch
behandelten gynäkologischen Tumoren.
Z. Krebsforsch. 67, 205, 1965
- EMMINGER, A., J. EICKE, U. MOHR und H. WRBA:
Konstanz im Chromosomenmuster der Tumorzellen
bei einem Plasmocytom des Goldhamsters.
Z. Krebsforsch. 67, 172, 1965
- FITZGERALD, P. H.:
Cytological identification of sex in somatic cells of
the rat, *Rattus Norvegicus*.
Exp. Cell. Res. 25, 1961
- FLEMMING, W.: Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebens-
erscheinungen.
Arch. Mikr. Anat. 20, 1, 1882
- FLEMMING, W.: Über die Chromosomenzahl beim Menschen.
Anat. Anz. 14, 171, 1898
- FORD, C. E. and J. L. HAMERTON:
The chromosomes of man.
Nature 178, 1020, 1956.
- FORD, C. E., J. L. HAMERTON and R. H. MOLE:
Chromosomal changes in primary and transplanted
reticular neoplasms of the mouse.
J. Cell and Compar. Physiol. 52, Suppl. 1, 235, 1958

- GARCIA, H., C. BARONI and H. RAPPAPORT:
Transplantable tumors of the Syrian golden hamster.
J. Nat. Cancer Inst. 27, 1323, 1961
- GEITLER, L.: Die Analyse des Kernbaus und der Kernteilung des Wasserläufers *Gerris lateralis* und *Gerris lacustris* und die Somadifferenzierung.
Z. Zellforsch. 26, 641, 1937
- GEITLER, L.: Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren durch Chromosomenteilung ohne Kernteilung.
Chromosoma 1, 1, 1939
- GEITLER, L.: Endomitose und endomitotische Polyploidisierung.
Protoplasmalogia VI C, 1, 1953
- GIMENEZ-MARTIN, G. und J. F. LÓPEZ-SAÉZ:
 Struktur des somatischen Chromosoms.
Zeiss Inform. 54, 117, 1964
- GLÄSS, E.: Die Identifizierung der Chromosomen im Karyotyp der Rattenleber.
Chromosoma 7, 655, 1956
- GLÄSS, E.: Das Problem der Genomsonderung in den Mitosen unbehandelter Rattenleber.
Chromosoma 8, 468, 1957
- GLÄSS, E.: Aneuploide Chromosomenzahlen in den Mitosen der Leber verschieden alter Ratten.
Chromosoma 9, 269, 1958
- GLÄSS, E.: Weitere Untersuchungen zur Genomsonderung I: Modellversuche zum Phänomen der Genomsonderung.
Chromosoma 12, 410, 1961
- GLÄSS, E.: Die Genomsonderung in den Mitosen der Rattenleber.
Experimentia 18, 192, 1962
- GREEN, H. N.: The absence of immunological identity in neoplastic cells.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 68, 268, 1957
- HANSEMAN, v. D.: Über asymmetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung.
Virchows Archiv Path. Anat. 119, 299, 1890
- HANSEN-MELANDER, E.: Accelerated evolution of cancer stemlines following environmental changes.
Hereditas 44, 471, 1958

- HANSEN-MELANDER, E., S. KULLANDER and Y. MELANDER:
Chromosome analysis of a human ovarian cystocarcinoma in the ascites form.
J. Nat. Cancer Inst. 16, 1067, 1956
- HARRIS, M.: Cell culture and somatic variation.
Holt-Rinehart and Winston, New York, Chicago, San Francisco, Toronto, London 1964
- HAUSCHKA, T. S.: Relationship between chromosome ploidy and histocompatibility in mouse ascites tumors.
Cancer Res. 12, 269, 1952
- HAUSCHKA, T. S.: Cell population studies on mouse ascites tumors.
Transact.
N. Y. Acad. Sci. II. Ser. 16, 64, 1954
- HAUSCHKA, T. S.: Correlation of chromosomal and physiologic changes in tumors.
J. Cell and Compar. Physiol. 52, 197, 1958
- HAUSCHKA, T. S.: The chromosomes in ontogeny and oncogeny.
Cancer Res. 21, 957, 1961
- HAUSCHKA, T. S.: Identification of individual human chromosomes, with special reference to X and Y.
In: Methodology, Burdette Ed., San Francisco, Holden Day Inc., pp. 255, 1962
- HAUSCHKA, T. S., S. T. GRINNEL, L. RÉVESZ and G. KLEIN:
Quantitative studies on the multiplication of neoplastic cells in vivo IV: Influence of doubled chromosome number on growth rate and final population size.
J. Nat. Cancer Inst. 19, 13, 1957
- HAUSCHKA, T. S., B. J. KVEDAR, S. T. GRINNEL and D. B. AMOS:
Immuno-selection of polyploids from predominantly diploid cell populations.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 63, 683, 1956
- HAUSCHKA, T. S. and A. LEVAN:
Characterization of five ascites tumors with respect to chromosome ploidy.
Quart. Rec. 111, 467, 1951
- HAUSCHKA, T. S. and A. LEVAN:
Inverse relationship between chromosome ploidy and host specificity of sixteen transplantable tumors.
Exp. Cell Res. 4, 457, 1953

- HAUSCHKA, T. S. and A. LEVAN:
Cytological and functional characterization of single cell clones isolated from the Krebs-2 and Ehrlich ascites tumor.
J. Nat. Cancer Inst. 21, 77, 1958
- HEITZ, E.:
Heterochromatin, Chromozentren, Chromomeren.
Ber. Deutsche Bot. Ges. 47, 274, 1931
- HSU, T. C.:
Some effects of abnormal tonicity on dividing cells in chic tissue cultures.
Quart. J. Micr. Sci. 93, 207, 1952
- HSU, T. C.:
Chromosomal evolution in cell populations.
Int. Rev. Cytol. 12, 69, 1961
- HUMAN CHROMOSOMES STUDY GROUP:
A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes.
J. Hered. 51, 214, 1960
- ISHIHARA, T., Y. KIKUCHI and A. A. SANDBERG:
Chromosomes of twenty cancer effusions: Correlation of karyotypic, clinical and pathological aspects.
J. Nat. Cancer Inst. 30, 1303, 1963
- ISHIHARA, T., G. E. MOORE and A. A. SANDBERG:
Chromosome constitution of cells in effusions of cancer patients.
J. Nat. Cancer Inst. 27, 893, 1961
- ISHIHARA, T., G. E. MOORE and A. A. SANDBERG:
Chromosome constitution of two tumors of the golden hamster.
J. Nat. Cancer Inst. 29, 161, 1962
- ISHIHARA, T., G. E. MOORE and A. A. SANDBERG:
The in vitro chromosome constitution of cells from human tumors.
Cancer Res. 22, 375, 1962
- ISING, U.:
Chromosome changes in Ehrlich's mouse ascites cancer on repeated transfer through hamsters and rats.
Acta Path. Microbiol. Scand. 40, 315, 1957
- ISING, U.:
Chromosome studies in Ehrlich's mouse ascites cancer after heterologous transplantation through hamsters.
Brit. J. Cancer 9, 592, 1955

- ISING, U.: Effect of heterologous transplantation on chromosomes of ascites tumors.
Acta Path. Microbiol. Scand., Suppl. 127, 1958
- ISING, U.: Chromosomal pattern in some mouse ascites tumors after deep freezing.
Exp. Cell Res. 19, 475, 1960
- KANO, K.: Mitotic features of monocytes occurring in the peritoneal fluid of rats.
J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool. 11, 495, 1953
- KAPLAN, H. S.: Some implications of indirect induction mechanisms in carcinogenesis: A Review.
Cancer 19, 791, 1959
- KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme, Stuttgart, 1961
- KAZIWARA, K.: Derivation of stable polyploid sublines from a hyperdiploid Ehrlich ascites carcinoma.
Cancer Res. 14, 795, 1954
- KLEIN, E.: Immediate transformation of solid into ascites tumors, studies on an mammary carcinoma of an inbred mouse train.
Exp. Cell Res. 8, 213, 1955
- KLEIN, G.: Comparative studies of mouse tumors with respect to their capacity for growth as "ascites tumors" and their average nucleic acid content per cell.
Exp. Cell Res. 2, 518, 1951
- KLEIN, G. and KLEIN, E.: The transformation of solid transplantable mouse carcinoma into an ascites tumor.
Cancer Res. 11, 466, 1954
- KLEIN, G. and KLEIN, E.: Conversion of solid neoplasms into ascites tumors.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 63, 640, 1956
- KÖRBLER, J.: Oncology, past and present.
Krebsarzt 19, 113, 1964
- KOLLER, P. C.: The genetic concept of cancer.
Cancer 1, 335, 1957
- KOLLER, P. C.: Chromosome behaviour in tumors: Readjustment to Boveri's theory. In: Cell physiology of neoplasia, pp. 9.
Austin University of Texas Press, 1960

- LEJEUNE, R. and R. TURPIN:
Chromosomal aberrations in man.
Am. J. Hum. Gen. 13, 179, 1961
- LETTRE, H.:
Das Yoshida-Sarkom der Ratte (Nach Arbeiten von T. Yoshida).
Z. Krebsforsch. 59, 287, 1953
- LEVAN, A.:
Colchicine-induced C-mitosis in two mouse ascites tumors.
Hereditas 40, 1, 1954
- LEVAN, A.:
The significance of polyploidy for the evolution of mouse tumors.
Exp. Cell Res. 11, 613, 1956 a
- LEVAN, A.:
Chromosome studies on some human tumors and tissues of normal origin grown in vivo and in vitro at Sloan-Kettering Institute.
Cancer 9, 648, 1956 b
- LEVAN, A.:
Self-perpetuating ring chromosomes in two human tumors.
Hereditas 42, 366, 1956 d
- LEVAN, A. and J. J. BIESELE:
Role of chromosomes in cancerogenesis, as studied in serial tissue culture of mammalian cells.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 1022, 1958
- LEVAN, A. and T. S. HAUSCHKA:
Chromosome numbers of three mouse ascites tumors.
Hereditas 38, 251, 1952
- LEVAN, A. and T. S. HAUSCHKA:
Endomitotic reduplication mechanisms in ascites tumors of the mouse.
J. Nat. Cancer Inst. 14, 1, 1953
- LEVAN, A. and T. C. HSU:
Repeated endoreduplication in a mouse cell.
Hereditas 47, 69, 1961
- LOEWENTHAL, H. und G. JAHN:
Übertragungsversuche mit carcinomatöser Mäuse-Ascites-Flüssigkeit und ihr Verhalten gegen physikalische und chemische Einwirkungen.
Z. Krebsforsch. 37, 439, 1932
- MAKINO, S.:
A cytological study of the Yoshida sarcoma, an ascites tumor of white rats.
Chromosoma 4, 649, 1952

- MAKINO, S.: Further evidence favouring the concept of the stem-cell in ascites tumors of rats.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 63, 818, 1956
- MAKINO, S.: The chromosome cytology of ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stem-line-cell.
Intern. Rev. Cytol. 6, 25, 1957
- KAMINO, S.: 'The concept of stemline-cells as progenitors of a neoplastic population.
Proc. Intern. Genet. Symp. Tokyo 177, 1957
- MAKINO, S. and T. C. HSU:
Mammalian chromosomes in vitro V: The somatic complement of the Norway Rattus Norwegicus.
Cytologia 19, 23, 1954
- MAKINO, S. and K. KANO:
Cytological studies on cancer I: Daily observations on the mitotic frequency and the variation of chromosomes in the tumor cells of the Yoshida-sarcoma through a transplant generation.
J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, 10, 225, 1951
- MAKINO, S. and K. KANO:
Cytological studies of tumors IX: Characteristic chromosome individuality in tumor strain cells in ascites tumors of rats.
J. Nat. Cancer Inst. 13, 1213, 1952
- MAKINO, S. and K. KANO:
Cytological studies of tumors XIV: Isolation of single-cell clones from a mixed-cell tumor of the rat.
J. Nat. Cancer Inst. 15, 1165, 1955
- MAKINO, S. and H. NAKAHARA:
Cytologische Untersuchungen an Tumoren XIII: Beobachtungen über den Mitoseablauf an lebenden Tumorzellen der Ascites-Sarkome der Ratte.
Z. Krebsforsch. 59, 298, 1953
- MAKINO, S. and M. SASAKI:
Cytological studies of tumors XXI: A comparative idiogram study of the Yoshida-sarcoma and its subline derivatives.
J. Nat. Cancer Inst. 20, 465, 1958

- MAKINO, S., M. SASAKI and A. TONOMURA:
Cytological studies of tumors XL: Chromosome studies in fifty-two human tumors.
J. Nat. Cancer Inst. 32, 741, 1964
- MOHR, U., EMMINGER, A., EICKE, J., STRAUSS, C.:
Cytologische Untersuchungen an Tumorzellen in Exsudaten von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren.
Gynaecologia 161, 49-64, 1966
- NACHTSHEIM, H.: Chromosomenaberrationen beim Menschen und ihre Bedeutung für die Entstehung von Missbildungen.
Naturwiss. 47, 361, 1960
- NOWELL, P. C. and D. A. HUNGERFORD:
Chromosome studies on normal and leukemic human leucocytes.
J. Nat. Cancer Inst. 25, 85, 1960
- NOWELL, P. C., D. A. HUNGERFORD and C. D. BROOKS:
Chromosomal characteristics of normal and leukemic human leucocytes after short-term tissue culture (Abstract).
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 2, 331, 1958
- OHNO, S., E. T. KOVACS and R. KINOSITA:
On the X-Chromosome of mouse mammary carcinoma cells.
Exp. Cell Res. 16, 462, 1959
- OHNO, S., E. T. KOVACS and R. KINOSITA:
A Robertsonian type of chromosomal change in L 4946 ascites lymphoma.
J. Nat. Cancer Inst. 24, 1187, 1960
- PATAU, K.: The identification of individual chromosomes, especially in man.
Am. J. Hum. Genet. 12, 250, 1960
- PATAU, K.: Chromosome identification and the Denver Report.
Lancet 1, 933, 1961
- PATAU, K., D. W. SMITH, E. THERMAN, S. L. INHORN and H. P. WAGNER:
Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome.
Lancet 1, 790, 1960
- PUTNOKY, J.: Über die heteroplastische Transplantation des Ehrlich'schen überimpfbaren Mäusecarcinoms.
Z. Krebsforsch. 32, 520, 1930

- RUTISHAUSER, A.: Chromosome distribution and spontaneous chromosome breakage in *Trillium grandiflorum*.
Heredity 10, 367, 1956
- RUTISHAUSER, A.: Cytogenetik transplantabler tierischer und menschlicher Tumoren.
Vierteljahresschr. Naturforsch. Ges. Zürich, Neu-jahrsblatt 107, 1963
- SACHS, L. and R. GALLILY:
The chromosomes and transplantability of tumors
I: Fundamental chromosome numbers and strain specificity in ascites tumors.
J. Nat. Cancer Inst. 15, 1267, 1954
- SANDBERG, A. A., T. ISHIHARA, T. MIWA and T. S. HAUSCHKA:
The in vivo chromosome constitution of marrow from 34 human leukemias and 60 nonleukemic controls.
Cancer Res. 21, 678, 1961
- SANFORD, K. K.: Clonal studies on normal cells and on their neoplastic transformation in vitro.
Cancer Res. 18, 747, 1958
- SANFORD, K. K., W. R. EARLE and G. D. LIKELY:
The growth in vitro of single isolated cells.
J. Nat. Cancer Inst. 9, 229, 1948
- SASAKI, M.: Observation on the modification in size and shape of chromosomes due to technical procedure.
Chromosoma 11, 514, 1961
- SASAKI, M. and Y. HISAKA:
Cytological studies of tumors XXIII: Comparison of the chromosomes between the Yoshida-sarcoma and its single-cell clones.
Cytologia 23, 218, 1958
- SASAKI, M. S. and M. SASAKI:
Changes of somatic chromosomes of the horse in serial in vitro transfers.
Cytogenetics (Basel) 1, 291, 1962
- SCHÜMMELFELDER, N. and W. WESSEL:
Chromosome number and morphology of cells of Ehrlich and MCAL ascites tumor of mouse.
Z. Krebsforsch. 61, 214, 1956
- SCHULTZ, J.: Malignancy and the genetics of the somatic cells.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 994, 1957

- SMITH, D.W., K. PATAU, E. THERMAN, S. L. INHORN and R. J. DE MARS:
The D 1 trisomy syndrome.
J. Pediatr. 62, 326, 1963
- SMITH, D.W., E. THERMAN, S. L. INHORN and H. P. WAGNER:
Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome.
Lancet 1, 790, 1960
- STICH, H. F. and T. C. HSU:
Cytological identification of male and female somatic cells in the mouse.
Exp. Cell Res. 20, 248, 1960
- STRONG, L. C.:
Changes in reaction potential of a transplantable tumor.
J. Exp. Med. 43, 713, 1926
- STRONG, L. C.:
On the occurrence of mutations within transplantable neoplasms.
Genetics 11, 294, 1926
- SYBENGA, J.:
Some sources of error in the determination of chromosome length.
Chromosoma 10, 355, 1959
- TANAKA, T.:
A study of the somatic chromosomes of rats.
Cytologia 18, 343, 1958
- THERMAN, E. and S. TIMONEN:
Inconstancy of the human somatic complement.
Hereditas 37, 266, 1951
- TJIO, J. H. and LEVAN, A.:
Chromosome analysis of three hyperdiploid ascites tumors of the mouse.
Lunds Univ. Arsskr. 50, 3, 1954
- TJIO, J. H. and LEVAN, A.:
The chromosome number of man.
Hereditas 42, 1, 1956
- TJIO, J. H. and T. H. PUCK:
Genetics of somatic mammalian cells II; Chromosomal constitution of cells in tissue culture.
J. Exp. Med. 108, 259, 1958
- WAGNER, A.:
Undersøgelser over Cancerresistance hos hvide Mus.
Aarhus. Stifsbogtrykkerie. A/S, 17, 1933
- WAKONIG, R.:
Further evidence of diploid neoplasms.
Canad. J. Genet. Cyt. 2, 344, 1960

- WARBURG, O.: On the origin of cancer.
Science 123, 309, 1956
- WARKANY, J., W. SCHUBERT and J. THOMPSON:
Chromosome analysis in mongoloism associated with leukemia.
New England J. Med. 268, 1, 1963
- WARREN, S. and O. GATES:
The fate of intravenously infected tumor cells.
Am. J. Cancer 27, 485, 1936
- WINGE, O.: Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren. I: "Crown Gall" der Zuckerrübe.
Z. Zellforsch. 6, 397, 1927
- WINGE, O.: Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren. II: Teerkarzinome bei Mäusen.
Z. Zellforsch. 10, 683, 1930
- WRBA, H.: Über wechselseitig auf Ratten und Mäusen wachsende Tumorkolonien in Ascitesform.
Klin. Wschr. 37, 273, 1959
- WRBA, H.: Wachstum der heterotransplantablen Mäuse- und Rattentumoren auf unvorbehandelten Goldhamstern.
Naturwissensch. 46, 339, 1959
- WRBA, H.: Beobachtungen am Yoshida-Tumor bei heterologem Wachstum.
Naturwissensch. 47, 188, 1960
- WRBA, H.: Wachstum des Yoshida-Sarkoms der Ratte auf unvorbehandelten Mäusen.
Klin. Wschr. 38, 237, 1960
- WRBA, H., J. EICKE und M. -L. MEINERS:
Veränderungen im Chromosomensatz heterolog wachsender Tumoren.
Z. Krebsforsch. 66, 115, 1964
- WRBA, H., J. EICKE, M. -L. MEINERS und A. EMMINGER:
Cytogenetische Untersuchungen an einem heterotransplantablen Ascites-Hepatoma in vivo und im Explantat.
Z. Krebsforsch. 66, 349, 1964
- WRBA, H. und J. EICKE:
Spontane und induzierte Wandlungen in Biologie und Wachstum von Geschwülsten.
Z. Krebsforsch. 65, 316, 1963

- WRBA, H. und M. RIPOLL-GOMEZ:
Zur Biologie des heterolog wachsenden Yoshida-Sarkoms (Stamm MR-RY).
Z. Krebsforsch. 63, 580, 1950
- WRBA, H. und M. RIPOLL-GOMEZ:
Die zytologische Analyse des spontan heterotransplantablen Stammes MR-RM des Walker-Tumors in Ascitesform.
Z. Krebsforsch. 65, 439, 1960
- YOSHIDA, T.: Studies on ascites (reticulo-endothelial cell?) sarcoma of the rat.
J. Nat. Cancer Inst. 12, 947, 1952
- YOSHIDA, T.: Chromosomal alteration and the development of tumors I: A new subline of Yoshida-sarcoma developed by chromosomal mutation.
Z. Krebsforsch. 63, 209, 1955
- YOSHIDA, T.: Chromosomal alteration and development of tumors. II: Chromosome conditions and the invasiveness of the Yoshida-sarcoma cells.
Gann 50, 233, 1959
- YOSHIDA, T.: Chromosomal alteration and the development of tumors V: Temporary proliferation of tetraploid cells in the Yoshida-sarcoma and their origin.
Gann 51, 345, 1960
- YOSIDA, T. H.: Karyological studies of the Takizawa Quinone-carcinoma and the Ehrlich ascites carcinoma in mice.
Cytologia 19, 225, 1954
- YOSIDA, T. H.: Origin of V-shaped chromosomes occurring in tumor cells of some ascites tumors in the rat.
Proc. Jap. Acad. 31, 237, 1955

Herrn Prof. Dr. Dr. H. WRBA bin ich zu sehr grossem Dank verpflichtet, denn die interessante Thematik der Doktorarbeit eröffnete mir den Einblick in eines der Hauptprobleme der naturwissenschaftlichen Forschung in unserer Zeit. Mit immerwährender Freundlichkeit und Grosszügigkeit hat Herr Prof. WRBA hauptsächlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Weiterhin gilt mein herzlicher Dank Frau Dr. Jutta EICKE, die mich von Grund auf in die Methodik der Cytogenetik einführte und mit bewunderswerter Geduld und bewährter Erfahrung alle auftretenden Fragen und Probleme zu klären und zu lösen wusste.

Herrn Dr. U. Mohr danke ich für die freundliche Bereitstellung von Punktionsmaterial von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren und von Goldhamsterembryonen für die Gewebekultur.

Frau Loipfinger und Fräulein Schad sage ich Dank für die Ausführung der vielfältigen Fotoarbeiten.

L E B E N S L A U F

Am 30. April 1941 wurde ich, Adelheid Marie Mech-
tild Emminger, als ältestes von 8 Kindern des Arz-
tes Dr. med. habil. Eberhard Emminger und seiner
Ehefrau Elisabeth, geb. Buchin in Berlin geboren.
Nach 4-jähriger Volksschulzeit in Deggendorf und
Augsburg, besuchte ich 9 Jahre lang das Realgym-
nasium der Englischen Fräulein in Augsburg und
schloss im Sommer 1960 die schulische Ausbildung
mit der Reifeprüfung ab.

Im WS 1960/61 begann ich das Studium der Medizin
an der Universität München, wo ich nach dem WS
1961/62 die naturwissenschaftliche Prüfung bestand.
Im SS 1962 hatte ich Gelegenheit, im Anatomischen
Institut (Dir. Prof. Dr. med. Titus v. Lanz) unter der
Anleitung von Prof. Dr. med. Joh. Lang eine deskrip-
tive Arbeit über das Ligamentum denticulatum aus-
zuführen. Im SS 1963 bestand ich die Ärztliche Vor-
prüfung. Im SS 1964 begann ich im Pathologischen
Institut der Universität München (Dir. Prof. Dr. med.
Büngeler) meine Doktorarbeit über Cytogenetik un-
ter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. H. Wrba. Im
SS 1965 immatrikulierte ich mich für die letzten kli-
nischen Semester an der Universität Heidelberg, da
ich bei Herrn Prof. Wrba im Institut für experimen-
telle Pathologie am Deutschen Krebsforschungszen-
trum auf dem Gebiet der Cytogenetik weiterarbeiten
durfte.

Ich beabsichtige, nach dem Sommersemester 1966
mein Studium in Heidelberg mit der Medizinischen
Prüfung (Staatsexamen) abzuschliessen.

